BR Biological Research

1999

Volumen 32 Número 2 - 3 1999

Ciencia y Sociedad

BR Sabe

CB GONZALEZ, & CD FIGUEROA
Vasopressin and bradykinin receptors in the kidney: Implications for tubular function

J ILLANES, M FUENZALIDA, S ROMERO, P GONZALEZ & D LEMUS
Ethanol effect on the chick embryo ossification: a macroscopic and microscopic study

J LEIVA & J LOPEZ
The superior colliculus, a neuronal network resistant to the Gaba withdrawal syndrome

J URZUA, E SAUMA, A CIPRIANO, M GUARINI & P ZAPATA
A model of internal control may improve the response time of an automatic arterial pressure controller

RESUMENES DE LA REUNION CONJUNTA

XLII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE

XXII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR DE CHILE

XXI REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE FARMACOLOGIA DE CHILE

XIII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGIA CELULAR DE CHILE

VIII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE ECOLOGIA DE CHILE

Indexed by Biosis, Embase, Lilacs, Medline, Periodica, Research Alert and Science Citation Index Expanded (ISI).

Abstracted in Biological Abstracts, Excerpta Medica, Index Medicus and Medlars

ISSN: 0716-9760

ANTES

Calidad

Servicio

Confianza

mannheim boehringer

DESPUES

Calidad

Servicio

Confianza

Innovación

!PCR en 20 minutos¡

Roche

Roche Molecular Biochemicals
Los Tres Antonios 119
Ñuñoa . Santiago
Fonos: 3752019/3752025
Fax: 2233004/2230010
http://biochem.roche.com
Guido.veliz.gvl@roche.com

Biological Research

is the continuation since 1992 of
ARCHIVOS DE BIOLOGIA Y MEDICINA EXPERIMENTALES
founded in 1964
Founding Editor
Jorge Mardones
Past Editors
Tito Ureta, Patricio Zapata

This Journal is the official organ of the SOCIETY OF BIOLOGY OF CHILE
Legal personality N° 2.521 (4.6.54)
RUT 70-397.4000-0
Legal address: Canadá 308
Santiago 9, Chile
Juan Guillermo Valenzuela
(Legal Advisor and Representative)

This journal is partly subsidized by the "Funds for Publication of Scientific Journals" of the National Commission of Scientific and Technological Research (CONICYT), Chile

Yearly subscription US$ 100
Payable to
Sociedad de Biología de Chile

Correspondence to
BIOLOGICAL RESEARCH
Sociedad de Biología de Chile
Canadá 253, piso 3°, Dpto. F.
PO Box 16164
Santiago, Chile
Fax (56-2) 225 8427
Phone (56-2) 209 3503
E-mail socbiol@huelen.reuna.cl

Indexed by Biosis, Embase, Lilacs, Medline, Periodica, Research Alert and Science Citation Index Expanded (ISI)

Abstracted in Biological Abstracts, Excerpta Medica, Index Medicus and Medlars

ISSN: 0716-9760

Editor-in-Chief

Manuel Krauskopf
Universidad Nacional Andrés Bello
Santiago, Chile

Associate Editors

Jorge Garrido
P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile
Jorge Martínez
Universidad de Chile, Santiago, Chile

Assistant Editors

Anita Maria Duhart Management and Production
Margaret Snook Editing and Proofreading
Rodrigo Ampuero Design
Sergio Prenafeta News Editor
Universidad Nacional Andrés Bello, Santiago, Chile

Editorial Board

Francisco Aboitz Universidad de Chile
Juan Bacigalupo Universidad de Chile
Enrique Brandan P Universidad Católica de Chile
Pedro Buc K U Leuven, Belgium
Claudio Barros P Universidad Católica de Chile
Gonzalo Bustos P Universidad Católica de Chile
Juan José Cazzulo Universidad Nacional San Martin, Buenos Aires
Catherine Connely Universidad de Chile
Luis Corcuera Universidad de Concepción, Chile
Sonia Dietrich Institute of Botany, Sao Paulo, Brazil
Eugenia del Pino Universidad Católica de Ecuador
Ricardo Ehrlich Universidad de la República, Montevideo, Uruguay
Alfonso González P Universidad Católica de Chile
Carlos González Universidad Austral de Chile, Valdivia
Joan Guinovart Universidad de Barcelona, España
Cecilia Hidalgo Universidad de Chile
Carlos Hirschberg University of Massachusetts, Worcester
Nibaldo Inestrosa P Universidad Católica de Chile
Carlos Jerez Universidad de Chile
Ramón Latorre Universidad de Chile
Juan Olate Universidad de Concepción, Chile
Omar Orellana Universidad de Chile
Antonio Peña Universidad Nacional Autónoma de México
M.A.Q. Siddiqui State University of New York, New York
Guillermo Figueroa Universidad de Santiago, Chile
Hector Torres Universidad de Buenos Aires
Tito Ureta Universidad de Chile
Pablo Valenzuela Fundacion Ciencias de la Vida, Santiago
Raimundo Villegas IDEA, Caracas
Ennio Vivaldi Universidad de Chile

Directorio 1999-2000

Mesa directiva

Dr. Nibaldo Inestrosa
Presidente
ninestr@genes.bio.puc.cl

Dr. Carlos Jerez
Vicepresidente
cjerez@abello.dic.uchile.cl

Dra. Cecilia Hidalgo
Pastpresident
ch@cecs.cl

Dr. Patricio Ojeda
Secretario
pojeda@genes.bio.puc.cl

Dra. María Inés Vera
Tesorera
mvera@abello.unab.cl

Dr. Pablo Valenzuela
Director
iib.@bionova.cl

Dr. Jorge Garrido
Director
jgarrido@med.puc.cl

Presidentes Sociedades Afiliadas

Dr. Mario George Nascimento
Sociedad de Ecología de Chile
mgeorge@cmet.net

Dr. Mario Rosemblat
Sociedad de Biología Celular de Chile
mrosembl@abello.dic.uchile.cl
iib.@bionova.cl

Dr. Juan Carlos Slebe
Sociedad de Bioquímica de Chile
jslebe@valdivia.uca.uach.cl

Dra. María Eugenia Bruzzone
Sociedad de Biología de la Reproducción
mbruzzon@machi.med.uchile.cl

Dr. Miguel Jordan
Sociedad de Botánica de Chile
mjordan@genes.bio.puc.cl

Dr. Sergio Mora
Sociedad de Farmacología de Chile

Dr. Mauricio Boric
Sociedad Chilena de Ciencias Fisiológicas
mboric@genes.bio.puc.cl

Dr. Guillermo Figueroa
Asociación Chilena de Microbiología
gfiguero@abello.dic.uchile.cl

Dra. Laura Walker
Sociedad de Genética de Chile
lwalker@machi.med.uchile.cl

Presidentes Agrupaciones Regionales

Dr. Manuel Roncagliolo
Agrupación Regional Valparaíso
mronca@uv.cl

Dr. Oscar Goicoechea
Agrupación Regional Valdivia
ogoicoec@valdivia.uca.uach

Dr. Claudio Palma
Agrupación Regional Coquimbo La Serena
cpalma@elqui,cic.userena.cl

Dra. Isolde Rudolph
Agrupación Regional Concepción

Secciones

Dr. Ramón Latorre
Presidente
Sección Biofísica
ramon@ces.cl

Dr. Juan Carlos Ortiz
Presidente
Sección Zoología
jortiz@med.puc.cl

Biological Research
1999 - vol. 32 - nº 2 y 3

iv Editorial

v Ciencia y Sociedad

xiv BR Sabe

63 C B GONZALEZ, & C D FIGUEROA
Vasopressin and bradykinin receptors in the kidney: Implications for tubular function

77 J ILLANES, M FUENZALIDA, S ROMERO, P GONZÁLEZ & D LEMUS
Ethanol effect on the chick embryo ossification: a macroscopic and microscopic study

85 J LEIVA & J LOPEZ
The superior colliculus, a neuronal network resistant to the Gaba withdrawal syndrome

93 J URZUA, E SAUMA, A CIPRIANO, M GUARINI & P ZAPATA
A model of internal control may improve the response time of an automatic arterial pressure controller

R-101 RESUMENES DE LA XLII REUNION ANUAL SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE

XXII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR DE CHILE

XXI REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE FARMACOLOGIA DE CHILE

XIII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGIA CELULAR DE CHILE

VIII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE ECOLOGIA DE CHILE

Ciencia y tecnología en la agenda política

La auténtica investigación científica y tecnológica en Chile descansa en un número de personas al menos diez veces menor, en proporción, que la que mueve el avance de los países que exhiben un desarrollo más elevado que el nuestro. Recién estamos formando, en el país, 4 doctores (consideradas las artes, humanidades, ciencias y tecnologías) por millón de habitantes al año, cuando los países industrializados gradúan entre 120 y 170 Ph.D.s por millón de habitantes.

Al entrar en el nuevo milenio, es imprescindible que en Chile, como ocurre en los países de mayor bienestar social, se incorpore en la agenda política el tema de la ciencia, de la tecnología y de la educación. No hay duda que quienes aspiran a participar en una elección presidencial, con dignidad por la causa, saben que ello implica más que un esfuerzo por mostrar rostros que convoquen simpatías y votos populares. Requiere reclutar talentos y técnicos en todos y cada uno de los aspectos sustantivos que articulan la buena marcha de un país. Personas competentes y vigentes en sus campos de acción. Políticos y expertos que representen en el país y en el extranjero el destilado de una vida vivenciada de conocimiento real. Quienes se proyectan para alcanzar la presidencia de Chile deben abordar, con rigor, el tema de ciencia y la tecnología, así como el de la educación superior como acontece en los países industrializados que adquieren los bienes y servicios producidos en nuestro país. Los estudios más serios de política científica demuestran inequívocamente la relación que existe entre la investigación fundamental que surge en los centros académicos y la innovación generadora de nuevos bienes y servicios que lidera la empresa privada. Aunque recurrentemente se han realizado reuniones que abordan la problemática de la investigación, la desarticulación que caracteriza al actual sistema de ciencia y tecnología del país prevalece. Para amalgamar los esfuerzos en un proyecto país se impone una aproximación que diferencie los intereses intelectuales individuales en beneficio de una respuesta colectiva, vigente y realista, que convoque a los auténticos investigadores que pueden desarrollar la ciencia y la tecnología que marca la diferencia entre el desarrollo y el estancamiento. En Chile existe la capacidad necesaria para configurar una acción coherente en ciencia y tecnología que, a diferencia del mero discurso, constituya un imperativo en la agenda política de quienes asumirán la responsabilidad de conducir al país en el inicio del tercer milenio.

MANUEL KRAUSKOPF - Editor in Chief
mkrausk@abello.unab.cl

Importante Reconocimiento a la Dra. Mary Kalin Arroyo

Sergio Prenafeta Jenkin

LA ACADEMIA DE CIENCIAS DE LOS ESTADOS UNIDOS INCORPORÓ RECIENTEMENTE COMO MIEMBRO EXTRANJERO A LA DRA. MARY KALIN ARROYO, ACADÉMICA E INVESTIGADORA DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE. CADA AÑO LA ACADEMIA DESIGNA A CINCO CIENTÍFICOS EXTRANJEROS EN SU NÓMINA, DOS DE LOS CUALES CORRESPONDIERON ESTA VEZ A QUIENES SE DESEMPEÑAN EN NUESTRO PAÍS.

MARY KALIN ARROYO
La Academia de Ciencias de los Estados Unidos reconoció su valiosa trayectoria como investigadora y organizadora de la formación de postgrado en ecología vegetal.

La investigadora nació en Nueva Zelandia, hizo estudios de pregrado en la Universidad de Canterbury, obtuvo su doctorado en botánica en 1971 en la Universidad de Califomia, Berkeley, y su postdoctorado lo realizó en The New York Botanical Garden, lo que le permitió herborizar en la intrincada geografía de América central. Luego de trabajar durante cuatro años en la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela, donde desarrolló investigaciones

pioneras en ecología reproductiva del bosque tropical, en 1978 llegó a Santiago incorporándose a la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile en el área de ecología vegetal. Luego de 21 años de estada en dicha casa de estudios, su dinamismo es ejemplar y contagioso. Organizó y ocupó la presidencia de la Sociedad de Botánica de Chile; fundó y coordinó la red Latinoamericana de Botánica, ha hecho docencia e investigación y dirigido tesis de postgrado de alumnos del país y el extranjero, pero al mismo tiempo ha recorrido metro a metro la geografía nacional -buena parte a pie para estudiar en terreno el patrimonio florístico del país. Hasta hoy no es fácil entenderle su castellano. Tiene un registro de 653 trabajos personales y en colaboración publicados en los últimos 30 años, "la mayoría dispersos e indizados bajo diferentes nombres a causa de la dificultad que les presenta mi apellido". En los últimos once años ha gestionado la entrega de fondos por más de dos millones de dólares para realizar investigaciones, cursos regionales para graduados y las actividades de la Red Latinoamericana de Botánica (RLB), a los que habría que sumar otros US$ 800.000 con los que llevó adelante una macro investigación en Tierra del Fuego, junto a 105 personas en el discutido proyecto Trillium.

¿Cuáles han sido las líneas prioritarias de sus investigaciones?

-No es fácil sintetizarlas pero creo que hay cuatro vertientes principales: los estudios de polinización en comunidades de plantas altoandinas y patagónicas, dando como resultado un modelo para investigaciones en otros ecosistemas del mundo; la investigación de los sistemas reproductivos de las plantas en comunidades altoandinas y en bosques tropicales, mediterráneos y templados de Sudamérica; trabajos monográficos sobre la sistemática y polinización de las leguminosas de América tropical y estudios florísticos, vegetacionales y biogeográficos de las comunidades de plantas andinas, mediterráneas y templadas de Chile.

La National Academy of Sciences selecciona con gran acuciosidad a quienes llama como sus nuevos miembros. ¿Qué cree usted que fue lo que determinó que la decisión recayera esta vez en usted?

-No sé quién fue el que postuló mi nombre, pero tengo algunas sospechas. Me parece que en la decisión de la Academia pesó de alguna forma mi productividad científica tanto en investigaciones publicadas como en el número de citas que muchas de ellas han merecido. Buena parte de estos trabajos, tanto en Chile como en Venezuela, han sido hechos con muy escaso apoyo del exterior. Creo que se ha valorado también la creación y puesta en marcha de la RLB, lo que significó la concesión de becas de postgrado y el aporte de equipamiento para alumnos de por lo menos diez países en la región, formándose seis centros de excelencia en botánica con reconocimiento intemacional. Un cuarto punto no menos importante fue la verdadera aventura que me cupo dirigir en Tierra del Fuego, al llevar adelante una investigación cooperativa con un centenar de colegas de distintas disciplinas a fin de estudiar el probable impacto ambiental que ocasionaráa la explotación de los bosques de Nothofagus en un proyecto comercial.

El proyecto Trillium, al que se refiere usted, generó gran polémica entre los grupos conservacionistas. ¿Cuál fue el área de vuestro trabajo?

-A fines de 1993 los ejecutivos de Trillium Corporation, propietarios del proyecto Río Cóndor, recurrieron a la Academia de

Ciencias del Instituto de Chile para solicitar que se designara un equipo de investigadores que estudiase en terreno los posibles alcances de la explotación de esos bosques. En febrero de 1994 aceptamos el cometido y creamos una Comisión Científica Independiente, con la que planificamos la realización de una serie de estudios que finalmente tomaron dos años. La propiedad tiene una extensión de 258.000 hectáreas, es predominantemente boscosa con fuerte presencia de bosques primarios maduros de Nothofagus, además de humedales y hábitats alto andinos que contribuyen a la diversidad y belleza escénica del paisaje.

Se trata nada menos que el 9% de la provincia de Tierra del Fuego chilena.

-Sin duda que es una gran extensión, por lo mismo que era fundamental plantear que la base de sustentabilidad ecológica radica en asegurar la mantención de los elementos físicos y biológicos de productividad, toda vez que ella requiere evitar el deterioro de la capacidad productiva de tierras y aguas, y evitar al mismo tiempo la pérdida de la diversidad genética. Nuestros estudios concluyeron que existen muchos aspectos asociados con la biota y los ecosistemas forestales en Río Cóndor que son favorables para alcanzar el objetivo de manejo ecológicamente sustentable. Del mismo modo, consideramos que ciertos aspectos del sistema de cosecha de la lenga pueden ser consistentes con el objetivo de mantener la integridad del paisaje.

El extenso informe que ustedes presentaron incluye también dudas y reparos.

-Así es. Las propiedades biológicas y las densidades poblacionales de algunas especies en Río Cóndor sugieren que debemos ser cautos en predecir las respuestas que estos organismos mostrarán a la cosecha. Una preocupación igual o mayor se relaciona con los suelos frágiles y empobrecidos de la propiedad, y ciertas indicaciones de problemas potenciales de regeneración de algunas áreas. Hemos hecho recomendaciones para enfrentar los problemas de regeneración y para asegurar la integridad de las áreas con suelos frágiles. Hemos recomendado asimismo que la extracción forestal se haga en forma conservativa, de acuerdo a las sugerencias hechas respecto a la pendiente, elevación, retención mínima de árboles en las áreas de cosecha; que se respete la regeneración en algunos sectores del predio; que las áreas de preservación sean identificadas antes del inicio de la explotación y que se realicen a la brevedad estudios de ciclaje de nutrientes.

¿Será posible que el proyecto destine un área para la conservación?

-Creo que ha sido uno de nuestros principales logros el que se haya autorizado que el 25% de la propiedad, esto es unas 68.000 hectáreas, se las dedique desde ahora como área protegida o de reserva, lo que constituye la más grande en su género en cualquier parte del mundo. Nosotros recomendamos que es esencial realizar evaluaciones formales y periódicas del proyecto y que los resultados de las evaluaciones deban de ser públicos. Yo no puedo disentir totalmente de las aprensiones manifestadas por los grupos ecologistas respecto a este proyecto, sin embargo creo que las apreciaciones conservacionistas siempre deben estar avaladas por estudios científicos y objetivos. Este ha sido el aporte de más de cien investigadores y su resultado es un documento que publicó en 1996 la Universidad de Chile titulado "Hacia un proyecto forestal ecológicamente sustentable. Conceptos, análisis y recomendaciones".

Ramón Latorre es incorporado a la Academia de Ciencias de EEUU

RAMON LATORRE
Recietemente incorporado a la Academia de Ciencias de los Estados Unidos en reconocimiento a su labor.

La comunidad científica está de plácemes porque el Dr. Ramón Latorre, bioquímico y luego doctor en ciencias de la Universidad de Chile (1969), fue invitado a incorporarse como miembro de la National Academy of Sciences de los Estados Unidos. Desde entonces su nombre ha estado asociado con la biofísica y más concretamente con los canales iónicos, esas proteínas presentes en las membranas biológicas que además captan estímulos ambientales mediante receptores y los transmiten química y eléctricamente.

La elegante descripción que B. Hille diera en 1984 sobre los canales iónicos, amerita ser recordada: "Sensibles pero potentes amplificadores, los canales iónicos perciben los sonidos de la música de cámara, guían el pincel del artista y generan las potentes descargas que produce la anguila eléctrica. Son ellos los que le dicen al Paramecium que debe retroceder después de chocar contra un obstáculo, y son ellos los responsables de que las hojas de la Mimosa se cierren".

Como lo recordara su maestro, el Dr. Mario Luxoro, en el acto oficial en que la Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular destacó los aportes de su alumno, el Dr. Latorre aprovechó para su formación sus interacciones no sólo con el grupo de chilenos establecidos en el laboratorio de Montemar (entonces de la Universidad de Chile, en Reñaca), sino que también con científicos estadounidenses representantes de la flor y nata de la biofísica de ese país. Antes de obtener su doctorado y demostrando ya una temprana independencia, junto a otra estudiante de la misma promoción, Cecilia Hidalgo, produjeron tres artículos que se publicaron -sin participación de otra persona- en el *Journal of Physiology* y en *Nature*. En 1986 publica en Estados Unidos un trabajo fundamental en su línea de acción: "Ionic Channels in Cells and Model Systems", donde recopila la totalidad de las investigaciones presentadas en un curso internacional sobre la materia organizado por el Centro de Estudios de Santiago dos años antes. Como profesor de planta o visitante, es llamado por las universidades de California, Los Angeles; Brandeis, Chicago, Harvard, Duke; a la Ecole Normales Superieure de Paris, al Baylor College of Medicine, Texas; investiga en el National Health Institute y en su propia casa de estudios, la Universidad de Chile.

Es autor de unas 120 publicaciones en revistas con riguroso comité editor y ha escrito o editado cuatro libros. Luxoro recuerda:

-En asociación con uno de ellos, "*Biofísica y Fisiología Celular*" editado en colaboración con otro chileno, F. Bezanilla, el colombiano Rodolfo Llinás y el español José López-Barneo- intuyó que una de las causas fundamentales para que haya asumido el liderazgo que determinó finalmente la aparición del texto, fue su muy marcado sentimiento hispano-americanista. A él no le gustaba que todo texto distinguido estuviese escrito en idiomas derivados de la cultura sajona o anglosajona. Con la colaboración de más de 30 científicos de origen ibero-americano, Latorre contribuyó sustancialmente a escribir, en español, lo que considero el mejor texto actual sobre Fisiología Celular y Biofísica. Así es como realmente se hace Patria. Espero que, alguna vez, la Patria lo entienda.

En 1989 la Sociedad de Biofísica de los Estados Unidos le concedió el Premio Elizabeth R. Cole, el que por primera vez recaía en un investigador latinoamericano. Dos años más tarde recibió el premio de la Academia de Ciencias del Tercer Mundo como «el científico más destacado del área de la Biología», de entre aquéllos provenientes de países en desarrollo. El Dr. Latorre se quedó en Chile, sin embargo va y vuelve a los principales centros de investigación del mundo para dar cuenta -entre otras cosas- de lo que sucede a nivel de la membrana celular, en cuya bi capa de lípidos navegan o están ancladas las proteínas que comunican el medio intracelular con su entorno.

Sobre el "Paraíso de Cantor"

Presentación del libro de Roberto Torretti por Servet Martínez

Cuando la Editorial Universitaria me envió el libro de Roberto Torretti, "El paraíso de Cantor: la tradición conjuntista en la filosofía matemática", comprendí que tenía frente a mí a una gran obra, un libro de ágil estilo, y cuyo contenido iba más allá de lo de otros con objetivos similares. Supe que estaba frente a algo fundamental, es un libro culto, escrito con saber y distancia.

Al autor lo conocía de oídas, cuando ingresé a la Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas en 1969, él era reputado por su rigor y profundidad. Después supe de él por Enrique d'Etigny y hoy agradezco haber recibido una lección acabada, enorme, que me tocó mucho en lo personal, 30 años después.

Otros filósofos de las ciencias y lógico-matemáticos de mayor competencia que la mía sobre el núcleo temático del libro ya se han referido a él con justos elogios, tanto por la claridad y la profundidad de la obra del Profesor Torretti.

Así Jesús Mosterín, autoridad en el tema y profesor de la Universidad de Barcelona escribe "El estilo de Torretti siempre es ejemplar: claro, erudito y riguroso a la vez. Torretti habla de temas muy difíciles del modo más claro posible" pero en que la búsqueda de claridad no sacrifica el rigor y sobre el libro asevera "El libro El paraíso de Cantor es la obra mejor y más completa que jamás se ha escrito en español sobre los fundamentos y la filosofía de la matemática. Con esta su autor acaba de perfilarse como un auténtico maestro en todos los campos de la filosofía teórica". ¿Y cuál es el valor de la teoría presentada?: "las matemáticas son la más grande aventura del espíritu humano, una combinación de lo mejor del arte y de la ciencia, de las más libre creatividad y de la más rigurosa disciplina. Torretti nos presenta las reflexiones, teorías y resultados sobre los fundamentos de la matemática desarrollados por una pléyade incomparable de lógicos, filósofos y matemáticos geniales a fines del siglo pasado y en el primer tercio de éste".

Durante la presentación del libro aparecen, de izquierda a derecha, el Dr. Servet Martínez, Premio Nacional de Ciencias, el Profesor Roberto Torretti, el Rector de la UNAB, Profesor Joaquín Barceló y el Director de la Editorial Universitaria, Braulio Fernández.

Y Francisco Rodríguez de la Universidad de Valencia resume "su lectura requiere esfuerzo, éste sería muy probablemente mayor si fuera otra la pluma que lo firma. Quien esto escribe no conoce nada similar, ni en extensión, ni en enfoque, ni en calidad, no ya en castellano, sino en ninguna otra lengua, así que da por sentado que la obra se traducirá pronto".

El título del libro "El Paraíso de Cantor" es una frase-programa de Hilbert referida al universo matemático conceptual que se asienta en una formulación rigurosa de la teoría de conjuntos que hizo Cantor. Y gran parte del libro describe la lucha dramática en lo conceptual, de matemáticos y lógicos en los primeros 30 años de este siglo por dar seguridad à las bases de este paraíso.

El libro comienza describiendo el aporte de Cantor, gran matemático, solitario, quien revolucionó las matemáticas colocando las preguntas esenciales sobre sus fundamentos y dejando trazado los caminos para las respuestas.

Cantor habitó en una época contemporánea a la de otros que como Nietzsche y Van Gogh, produjeron quiebres fundamentales en otros dominios. Pero gracias a la estructura de las matemáticas y a su particular estilo y forma de valorización conceptual, el hombre Cantor y su drama no eclipsaron ni falsearon la obra de Cantor. Eso se lo agradezco a Torretti, no ceder a la tentación biográfica y concentrarse en guiarnos a través de las ideas fundamentales de Cantor: su camino teórico precisando la idea de conjunto, lo que está estrechamente ligado a conceptualizar el infinito, y esto lo hizo vía los cardinales y los ordinales, estos últimos ligados al problema analítico de expansión de funciones como series de funciones trigonométricas.

Torretti toca todo el ámbito de la idea, así nos muestra la clara conciencia que Cantor tenía sobre el valor de sus investigaciones, que ellas tocaban temas de importancia filosófica e incluso teológica. Para no extraviarse en este tema Cantor tenía un marco rigurosamente definido de las matemáticas "el caudal de sus ideas tiene que considerar única y exclusivamente la realidad inmanente de sus conceptos y no las relaciones con el mundo exterior".

Torretti nos muestra con rigor matemático como Cantor llega al problema de bien ordenar los reales, problema que a cualquier matemático de esa época que no participara del paraíso que él estaba construyendo, hubiera chocado y este fue el caso de Borel y Lebesgue.

Se reproduce incluso una demostración tentativa de Cantor para probar que todo conjunto está bien ordenado. La argumentación sorprende por su forma matemática, la contradicción clave muestra que si tal conjunto no estuviera bien ordenado, no sería conjunto.

Posteriormente se describe la falsa prueba de Julius Köening de que los reales no estaban bien ordenados y finalmente la demostración de Zermelo (1904) que cualquier conjunto puede ser bien ordenado y esto basado en el axioma de elección, que había sido utilizado sin sospechar que era un axioma por matemáticos franceses y que lo colocaron en duda cuando vieron sus consecuencias.

Y aquí empieza el rol de Hilbert. Reconoció cuan inmensa era la obra de Cantor y la hipótesis del continuo fue el primero de todos los problemas que el proponía al siglo XX. Hipótesis que fue resuelta por Cohen en 1960.

Antes de continuar con la descripción del tema del libro quiero referirme a su concepción y estilo. El libro puede leerse como filósofo, lógico, matemático o quizás más precisamente por quien, como yo, se interesa por la génesis de las ideas, los virajes, las apuestas conceptuales. El autor está presente sutilmente, vía algunas frases nos da a conocer las que él considera como inflexiones del pensamiento, lo que está en juego, o también a través de citas, que siempre son relevantes y ellas, por su elección, nos indican en parte, el pensamiento más íntimo del autor.

Es un libro difícil que, riqueza de lenguaje mediante, va capturando al lector, dándole las armas conceptuales para seguir adelante y entregando por adelantado la idea global de las dificultades que necesitan ser penetradas, abriendo el apetito para continuar. Posteriormente el autor le da un sentido (nunca El sentido) de lo que esta teoría significa en el resto de las matemáticas, su contribución al paraíso.

Después de Cantor el libro se adentra en el programa de Hilbert: la axiomatización de las matemáticas. Se describe su evolución, sus cambios y adecuaciones durante los primeros 30 años del siglo, hasta el giro radical que tomó el programa o si se quiere su fin, con ocasión de la aparición del teorema de incompletitud de Gödel.

Como dice el autor hay elementos primitivos, básicos, que debemos aceptar previo a cualquier programa: existencia de elementos distinguibles (símbolos), concatenación de símbolos, secuencias de líneas. Aceptado esto, los problemas fundamentales del programa de Hilbert o de su teoría de la prueba son:

- solubilidad de todo problema matemático;
- criterio de simplicidad de las demostraciones matemáticas;
- decidibilidad de una cuestión matemática mediante un número finito de operaciones.
- consistencia: solo se tenía consistencia relativa, la de la geometría reposaba en los reales y la de éstos en los enteros mediante el uso de la teoría de conjuntos (Weierstrass, Dedekind). Pero axiomatizar la teoría de conjuntos y de los enteros exige axiomatizar la lógica misma y deducir de ésta la consistencia de enteros y conjuntos. Los trabajos de Frege y Russell eran fundamentales para la axiomatización de la lógica. En parte se debía probar por medios finitos que el conjunto de pruebas posibles (que son infinitas) no llevan a establecer una fórmula falsa.

La factibilidad para la realización de un programa tan radical contaba con una advertencia fundamental, la de Poincaré, quien ya en 1894 había rechazado el intento de basar la matemática en la lógica porque la edificación rigurosa de la lógica requiere de la inducción matemática. De hecho Hilbert lo había comprendido en 1904 cuando propone una fundamentación simultánea de la lógica y la matemática.

Es singular que la escuela francesa apenas aparezca en esta aventura. Por otra parte no hay prácticamente ninguna referencia a escuelas nacionales en el libro. Salvo la hecha a Poincaré y a algunos que mostraban la desconfianza de los matemáticos franceses en la sobreaxiomatización (lo que hay suena paradójico después de la importancia que tomó el grupo Bourbaki en Francia desde los años 40', como si se hubiera querido reatrapar las tres primeras decenias del siglo). Quizás la única referencia a influencias nacionales Torretti la hace sutilmente alrededor del rol que jugó Von Neumann en los fundamentos de las matemáticas y en el desarrollo del programa de Hilbert. Torretti nos dice que en los comienzos de este programa en 1904, Hilbert no fue influenciado por Koëning, quien sí influenció a Von Neumann, siendo húngaros los dos.

El teorema de incompletitud de Gödel en 1931 afectó seriamente el programa de Hilbert, que el libro expone con detalle. Aprecio particularmente que Torretti se concentre no en los programas que este teorema fundamental cierra sino en las teorías que él abre. Y dedica la parte final del libro al estudio de funciones computables y recursivas que comienza en la teoría desarrollada por Gödel, y que serán precisadas posteriormente por Kleene (1936), Church y Turing.

El programa de Hilbert contribuyó al desarrollo de grandes maquinarias conceptuales, a entender de manera significativa el quehacer matemático y a extender y precisar el dominio de las matemáticas mismas. Torretti nos describe magistralmente las elecciones, los altos, las bifurcaciones, los atajos en esta marcha. Y el valor inmenso de lo que está en juego, de las polémicas y de los disensos. En estas encrucijadas hay hechos que si bien no son

conceptuales no dejan de estar relacionados a como las ideas se consolidan.

Así en el libro se refiere que Hilbert, director de Mathematische Annalen, hizo sacar a Brouwer de la lista de colaboradores, donde había estado entre 1915-1928, argumentando que no era posible la colaboración dada la incompatibilidad de puntos de vistas sobre cuestiones fundamentales. En particular Hilbert le criticaba que al querer quitarle al matemático el Principio de tercero excluído, le despojaba de una de sus herramientas fundamentales y criticaba veladamente a Brouwer expresando su asombro por el poder de sugestión que un solo hombre temperamental puede tener. El autor no se pronuncia sobre la separación de Brouwer de los Mathematische Annalen, solo lo expone.

Una reflexión última concerniente a ideas matemáticas. Hay una idea, que puede llamarse método y que fue popularizado como paradoja de Russell: la existencia del conjunto de todos los conjuntos es contradictoria matemáticamente, proposición conocida por Zermelo pero no publicada. Como el mismo Russell dice, la base argumental de su paradoja está en la prueba que hace Cantor de que el cardinal de un conjunto es menor estrictamente que el cardinal de todos sus subconjuntos. Este método que podríamos llamar diagonal y que también es la base de la prueba de Cantor que los reales no se pueden enumerar, el autor lo retrotrae a Bois-Raymond que en 1875 lo había usado para probar existencia de clases de funciones con crecimiento de determinado tipo. Y posteriormente analiza el rol que este razonamiento juega en la prueba del teorema de incompletitud de Gödel. Y es este mismo procedimiento diagonal el que encontramos tras la prueba de Ackermann (1928) en que se construye una función calculable por recursión y que crece más rápida que cualquier función pre-recursiva.

El método diagonal es tanto una herramienta que prueba inexistencia por contradicción pero también puede llevar a probar existencia aunque generalmente se hace via contradicción, dada la existencia de otro elemento. Sin embargo puede probarse existencia con el método diagonal usando argumentos no contradictorios, como en el caso de Krylov Bogoliuvov para probar en 1937 que todo sistema dinámico definido en un conjunto deja invariante una medida. Este razonamiento fundamental Torretti lo destaca y describe con detalle.

Torretti elige lo significativo, la evolución y los conflictos de ideas, no hay juicios perentorios, es una obra abierta. Incluso la buscada seguridad conceptual de los fundamentos de este paraíso también queda abierta. Así, sobre la demostración de Gentzen de 1936 sobre la no-contradicción de la aritmética utilizando intuitivamente la inducción transfinita hasta cierto ordinal el autor cita la opinión del grupo Bourbaki 1970: el valor de "certeza" atribuíble a tal razonamiento es sin duda menos probatorio que las exigencias iniciales de Hilbert, luego el valor de esta certeza es esencialmente cosa de la psicología personal de cada matemático. Curioso que la seguridad del paraíso se reduzca a una cuestión psicológica.

El libro del profesor Torretti no es un libro simple, es el del desarrollo de ideas que están en el fundamento de nuestras construcciones teóricas y que deben ser ciertas, como dice Hilbert, por el éxito producido: el análisis matemático que es base de la física.

Quiero finalizar agradeciendo al profesor Torretti por esta obra inmensa que me sorprendió y por lo mismo considero necesario para nuestra formación y desarrollo cultural y científico. Por último debo decir que tuve un placer infinito al leerlo.

17 de Junio de 1999

SERVET MARTÍNEZ AGUILERA

Nacido 5/3/52, Santiago
Ingeniero Matemático, U. de Chile
Doctorado de Estado, U. de Paris VI
Areas de Investigación: Procesos Estocásticos
Premio OEA Manuel Noriega en Ciencias Exactas 1992
Premio Nacional de Ciencias Exactas 1993
Pro Secretario Academia de Ciencias desde 1998.

Valdivia recibe a científicos

Santa María la Blanca de Valdivia, capital de los ríos, bosques y humedales del sur de Chile, es desde el 1 de agosto la sede del Centro de Estudios Científicos del Sur, CECS, ex Centro de Estudios Científicos de Santiago. Un grupo de 30 investigadores con calificación de Ph.D. en disciplinas como física teórica, biofísica o geotectónica, junto a otros seis administrativos, decidieron cambiar de residencia y se instalaron en la orilla sur del río Calle-Calle, mientras en la ribera opuesta se levanta el campus principal de la Universidad Austral de Chile, UACH. La iniciativa tuvo varios gestores, pero sin duda fue el Dr. Claudio Teitelboim, Premio Nacional de Ciencias Exactas, asesor científico del Presidente Eduardo Frei y titular de la institución, quien concitó la anuencia de sus colegas investigadores y el interés del gobierno para apoyar la descentralización de la actividad científica, lo que se concretó en el aporte de una importante suma de dinero para la compra del inmueble de un ex hotel emblemático de la ciudad -el Schuster- que de inmediato comenzó a ser acondicionado para el trabajo de los investigadores. El rector de la UACH, Manfred Max Neef destacó «la valentía de los científicos que se atrevieron a dejar la capital para instalarse en provincia». Teitelboim reconoció que estaban muy dispersos en Santiago lo que les restaba fuerza en su trabajo. «La capital se ha transformado en una ciudad bastante insoportable, y ésta es una oportunidad única para empezar de nuevo la vida. En el momento que tomamos esta decisión, todos nos sentimos diez años más jóvenes. Es una sensación de aventura, de ir a la frontera, de descentralizar y eso es hacer patria, porque queremos engrandecer nuestro país por medio de la descentralización, y la nuestra es una forma original de hacer las cosas».

La ciudad los recibió como a los triunfadores. Los bomberos tendieron cortinas de agua en torno al río mientras un viejo vapor conducía a los científicos. El alcalde de la ciudad, el subsecretario de Desarrollo Regional, parlamentarios y académicos aguardaban en el muelle. El grupo de avanzada lo integraban, entre otros, el biofísico Ramón Latorre, el neurobiólogo Pedro Abarca, María Angélica Edwards, Francisco Sepúlveda y Osvaldo Alvarez, aparte de Teitelboim. Concluían así 15 años de residencia en Santiago luego que volvieron de Estados Unidos. La etapa metropolitana la cumplieron jalonada de éxitos internacionales por la excelente convocatoria de Premios Nobel y pioneros en distintas disciplinas que logró llegar hasta el Centro para dialogar y enseñar sobre las fronteras de la ciencia. Uno de los últimos de esa estirpe fue sin duda Stephen Hawking.

En Santiago, entretanto, ningún medio informativo dio a conocer ni comentó este hecho. Muchos investigadores de las principales universidades, en conocimiento de lo acaecido, se mostraron dolidos por lo que consideraron una pérdida incalculable para la formación de doctorado y post doctorado que ayudaban a brindar los científicos que decidieron cambiar de residencia. En la Universidad Austral de Chile, en cambio, hay ahora caras sonrientes.

US$ 11 millones: Dos nuevos proyectos FONDAP aprueba el Gobierno de Chile

El Ministerio de Educación de Chile seleccionó dos de los diez proyectos presentados al concurso del Fondo Nacional de Desarrollo en Areas Prioritarias, FONDAP, dada "su importancia estratégica para el país". Uno de ellos es sobre Biomedicina, está a cargo del Dr. Nibaldo Inestrosa, de la Pontificia Universidad Católica de Chile, y tiene como propósito generar y transmitir conocimientos aplicables al entendimiento de enfermedades crónicas y progresivas y que ofrezcan nuevas expectativas terapéuticas en patologías para las cuales hasta ahora no hay

tratamiento efectivo, como la enfermedad de Alzheimer, ciertos cánceres, la hipertensión arterial, la arterioesclerosis, las enfermedades autoinmunes y la distrofia muscular, que tienen como base alteraciones multifactoriales y celulares involucradas en la regulación celular.

El segundo proyecto estará a cargo de las universidades de Chile y de Santiago de Chile, y se propone encontrar nuevos materiales o nuevas propiedades de aquellos elementos que se usan, con el fin de potenciar el desarrollo de avances tecnológicos.

El presente concurso es el segundo que se realiza para investigaciones avanzadas del FONDAP, que administra CONICYT. El primero seleccionó dos proyectos que se encuentran hoy en ejecución, sobre modelamiento matemático y oceanografía. Los dos proyectos ganadores en 1999 recibirán un financiamiento de seis mil millones de pesos (US$ 11.472.275) por un período de cinco años. Cada proyecto seleccionado tiene un financiamiento tope de 600 millones de pesos anuales, renovables a cinco años si la investigación va cumpliendo sus objetivos.

En la selección de las propuestas presentadas al FONDAP participaron científicos de Francia y de la National Science Foundation, NSF. De esta última vinieron especialmente a Chile los doctores Anabelle Segarra, experta en biomedicina; Carmen Huber, física en ciencia de los materiales, Thomas Frost, especialista en tecnología del medio ambiente y fisiología vegetal, y David Lambert, experto en geología. El Dr. Bernabé Santelices, director del Programa de Centros de Investigación Avanzada, señaló que los recursos disponibles por el Estado son una cantidad significativa para un grupo de científicos destacados en Chile, «quienes podrán investigar con tranquilidad y en equipo multidisciplinario».

Dr. Nibaldo Inestrosa Cantín obtiene beca Guggenheim

La John Simon Guggenheim Memorial Foundation concedió una beca de post doctorado al Dr. Nibaldo Inestrosa C., académico e investigador de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Se trata de una beca que concede un año sabático y amplia libertad de acción al beneficiario, y que el profesor Inestrosa utilizará durante tres meses en Estados Unidos y el resto en Santiago.
Durante su estada fuera del país trabajará un mes y medio en la Clínica Mayo de Florida, y otro lapso similar permanecerá en el Walter Reed Medical Center de Washington D.C., con el fin de continuar sus investigaciones sobre colinesterasa y la formación del péptido beta-amiloide, vinculado a la génesis y desarrollo de la Enfermedad de Alzheimer.
En 1999 la Fundación otorgó 34 becas para América latina y el Caribe por un total de US$ 1.088.000, con un promedio de US$ 32.000 por beca, dentro de una lista de 405 solicitantes.

XLII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE

XXII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR DE CHILE

XXI REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE FARMACOLOGIA DE CHILE

XIII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGIA CELULAR DE CHILE

VIII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE ECOLOGIA DE CHILE

16 al 20 de Noviembre de 1999

Gran Hotel Pucón

PATROCINAN

FUNDACION ANDES

FUNDACION ANDES
FUNDACION CIENCIA PARA LA VIDA
FUNDACION PARA BIOLOGIA CELULAR
P. UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE
UNIVERSIDAD DE CHILE
UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE
UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
UNIVERSIDAD CATOLICA DE LA SANTISIMA CONCEPCION
CONICYT

AUSPICIAN

ANDES IMPORT
BIOSCHILE I.G.S.A.
FERMELO S.A
INGEMED S.A.
PERKIN ELMER CHILE
PHARMA BRIL
PRODUCTOS ROCHE LTDA.
TCL LTDA.
TECSIS LTDA.
WINKLER LTDA.
IVENS S. A.
MERCK QUIMICA CHILE LTDA.
W. REICHMEANN y CIA. LTDA.
METROLAB S.A.

PROGRAMA

XLII REUNION ANUAL SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE
XXII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR DE CHILE
XXI REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE FARMACOLOGIA DE CHILE
XIII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGIA CELULAR DE CHILE
VIII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE ECOLOGIA DE CHILE

MARTES 16 DE NOVIEMBRE

08.30 - 13.30 INSCRIPCIONES SALON RANCO

13.00 - 14.00 ALMUERZO

14.30 – 16.30

BIOLOGIA MOLECULAR VEGETAL SALON ARAUCANIA
Mesa: A. Orellana
A. Venegas

14.30 **Garretón, V.,** Carpinelli, J. y Holuigue, L. (Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **La activación transcripcional de genes por ácido salicílico en mediada por señales de estrés oxidativo en tabaco.**

14.45 **Ortega, X.** (Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas yFarmacéuticas, Universidad de Chile). **Elementos comunes en la transducción de señales para síntesis de fitoalexinas y de PR en *Citrus limon*.**

15.00 **Rojas, P.,** Norambuena, L., Orellana, A., (Laboratorio de Membrana, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Centro de Estudios Científicos de Santiago.) **Conservación de la señal de retención en aparato de Golgi de células animales y vegetales.**

15.15 Socías, T., García, V., Gidekel, M., **Venegas, A.** (Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile INIA-Carillanca). **Secreción de quitinasa de *Trichoderma harzianum* en *E. Coli* mediante incorporación de señal de secreción de la proteasa B de *Erwinia chrysanthemi***

15.30 **Ruiz-Lara, S.,** Bratti, S., Yañes, M., Verdugo, I. y González, E.(Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca). **Expresión específica de retrotrasposones LTRs en *Lycopersicon chilense* inducida por heridas y congelamiento.**

15.45 **Sánchez, C.,** Ramírez, I., Cárdenas, L., Peña-Cortés, H., (Facultad de Ciencias Químicas y Biología, Universidad de Santiago de Chile).**Inhibición de la expresión génica inducida por herida de aleno óxido sintasa mediante ARN-antisentido en plantas transgénicas de tomate.**

16.00 **Ordenes, V.,**Wolff, D., (Universidad de Concepción y Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Transporte activo de calcio en el aparato de Golgi de células de arveja.**

16.15 **Yuseff, M.I.,** Vergara, A., Carvajal, M., Orellana, A.(Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Clonamiento y expresión en levaduras de genes de nucleósids difosfatasas y transportadores de nucleótidos-azúcar de aparato de Golgi en plantas.**

BIOQUIMICA I SALON LONQUIMAY
Mesa: L. Holuigue
L. Meza-Basso

14.30 **Salinas, P.,** Hidalgo, P. (Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Clonamiento y caracterización del cDNA de la subunidad de la caseína quinasa 2 de tabaco.**

14.45 Salazar, M., Theoduloz, C., Vega, A., Badilla, R. y **Meza-Basso** (Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología y Servicio Agrícola y Ganadero). **Desarrollo de una metodología para la identificación de especies del género *Rhagoletis*.**

15.00 Contreras, P., Gajardo, D., **Rojas, M.C.,** Pino, I. (Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Solubilización de proteínas desde frutos inmaduros de *Vitis vinifera*.**

15.15 **Bastidas, F.,** Cortinez, G., Urzua, U., Vicuña, R. (Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Departamento de Citología Bioquímica y Lípidos, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Reacciones redox en el medio extracelular del hongo *Ceriporiopsis subvermispora***

15.30 **Sandoval, P.** Gómez, I., y Jordana, X. (Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **El gen funcional para la proteína ribosomal S14 fue transferido desde la mitocondria al núcleo antes de la divergencia de las monocotiledóneas trigo y maíz.**

15.45 **Otth, C.** Weber, H., Rauch, M.C., y Triviño, C.(Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile). **¿Existen transportadores facilitativos de hexosas en cloroplastos?**

16.00 **Urrutia, O.,** Agüero P., y Rojas, M.C. (Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Oxidasa del carbono 7 y 3- hicroxilasa de giberelinas en *Gibberella fujikuroi.***

16.15 **González, E.,** Osorio, D., Sagredo, C. y Poblete, F. (Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca). **Identificación y aislamiento de genes de expresión fruto-especifica.**

ECOLOGIA I **SALON COÑARIPE**

Mesa: F.Bozinovic
P. Marquet

14.30 **Ramos-Jiliberto, R.** Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso e Instituto de Oceanología, Universidad de Valparaíso). **Explicando el patrón estacional de dinámica poblacional de *Daphnia ambigua*: evidencias de terreno y un modelo matemático simple**

14.45 Farfán, G. **Rivera, A.** (Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Tasa metabólica máxima, basal y tamaño corporal en poblaciones de *Chroeomys olivaceus*: efecto del hábitat térmico.**

15.00 **Nespolo, R.,** Opazo, J.C. (Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Aclimatación térmica y plasticidad metabólica en tres especies de roedores chilenos: ¿inercia evolutiva o adaptación local?**

15.15 **Balboa, L.,** George-Nascimento, M., Marquet, P. (Departamento de Ecología, P. Universidad Católica de Chile). **Patrones de anidamiento de especies en dos niveles de organización: la importancia del modo de vida del parásito.**

15.30 Muriel, S., **Grez, A.** (Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile). **Efecto de la geometría de los parches de vegetación sobre la densidad de tres especies de lepidópteros asociados a *Brassica oleracea.***

15.45 **Hérnández, C.,** Rojas, J.M., Labra, F., Ojeda, F.P. (Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológica, P. Universidad Católica de Chile).. **Variabilidad temporal en el reclutamiento de tres especies de peces intermareales: *Scarthichtys viridis, Girella laevifrons* y *Graus nigra.***

16.00 **Silva, S. I.** (Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológica, P.Universidad Católica de Chile). **Energética y asimilación de nutrientes en el zorro culpeo (*Pseudalopex culpaeus).***

16.15 **Iriarte, J.,** Atala, C., Novoa, F., Canals, M. (Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencia, Universidad de Chile). **Morfometría comparada de dos especies de murciélagos chilenos y su correlación con la conducta de vuelo.**

16.30 - 17.00 CAFE **SALON CONGUILLIO**

17.00 - 19.00

BIOLOGIA CELULAR I **SALON ARAUCANIA**

Mesa: R. Mayor
J. Puente

17.00 **Palma, K.,** Kukuljan, M., (Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Contribución de los canales de calcio activados por despolarización (VSCC) a la inducción mesodérmica de *Xenopus laevis***

17.15 **Maldonado, C.,**Miranda, D., Lira, M., Blanco, L.P. y Puente, J.(Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). **Activación bacteriana de las células NK humanas: participación de proteína quinasas.**

17.30 **Barría, M.,** Esquivel, P. (Instituto de Inmunología, Universidad Austral de Chile) **Efecto de prolactina en la tiroiditis experimental autoinmune.**

17.45 **Gómez, C.,** Pérez, C., Sierra, F., Walter, R. (Instituto de Ciencias Biomédica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **La expresión de genes de fase aguda tipo I y tipo II es diferencialmente afectada por la edad en ratas Fisher 344.**

18.00 **Espinosa, I.,** Valim, C., Ferreira, H., Zaha, A., Galanti, N.(Programa de Biología Celular y Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Tripsina y quimotripsina inducen diferenciación post-larval del platelminto *Mesocestoides corti* in vitro.**

18.15 **Young, R.,** Mayor, R.,(Departamento de Biología, Facultad de Ciencia, Universidad de Chile). **Participación de xlug en la diferenciación mesodérmica de *Xenopus*.**

18.30 **Reyes, L.,** Bono, M.R. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Fundación Ciencia para la Vida). **La adhesión de linfocitos induce la expresión de moléculas MHC clase II en células endoteliales.**

18.45 **Glavic, A.** (Laboratorio de Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Análisis molecular de la especificación del cerebelo en *Xenopus laevis*.**

BIOQUIMICA II **SALON LONQUIMAY**

Mesa: C. González
O.Orellana

17.00 **Guaitiao, J.P.,** Pinar, B., Roth, M, y León, O. (Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Austral de Chile)**Identificación del sitio de unión del híbrido RNA/DNA de Rnasa H de HIV-1**

17.15 **Levicán G.,** Jedlicki, E., Guacucano, M, Várela, P., Inostroza, C. y Holmes, D.(Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **La mutación de genes con secuencias de inserción involucra funcionalmente a la proteína ResB y un citocromo c1 en la oxidación de hierro en *Thiobacillus ferrooxidans*.**

17.30 **Salazar, J.,** Zúñiga, R.,Lefimil, C.,y Orellana, O.(Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad de Chile). **Peculiaridades de las Tirosil y Triptofanil tRNA sintetasas de *Thiobacillus ferrooxidans***

17.45 **Jacob, G.,** Neckelman, G., Jiménez, M., Tapia, J., Connelly, C., Allende, J.(Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Características de mutantes de la subunidad alfa de la proteína quinasa Ck2**

18.00 **Araya, P.,**Murialdo, H.,(Fundación Ciencia para la Vida). **Estructura de una enzima con actividad nucleolítica y de translocación de DNA. Estudios preliminares.**

18.15 **Jipoulou, F.,** Navarro, J., González, C.B.(Departamento of Physiology and Biophysics, University of Texas, Medical Branch e Instituto de Fisiología, Universidad Austral de Chile).**Clonamiento molecular del receptor V1a de [8-lisina] vasopresina de hígado de cerdo.**

18.30 **Hinrichs, M.V.,** Echeverria, V., Torrejón, M.,Martínez, J., Toro, M.J., Olate, J.(Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). **Mutagénesis en el switch IV del dominio helicoidal de la Gs Humana reduce la velocidad de intercambio GDP/GTP**

18.45 **Chávez, R.,** Schachter, K., Peirano, A., Bull, P. y Eyzaguirre, J.(Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Análisis genético y expresión de tres enzimas del sistema xilanolítico de *Penicillium purpurogenum*.**

FARMACOLOGIA I **SALON COÑARIPE**

Mesa: Y. Israel
N. Martin

17.00 **Gaete, L.E.** Saavedra, M., Bentjerodt, O. y Saavedra, I. (Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM y Escuela de Postgrado, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Estudio de interacciones farmacocinéticas entre clonixinato de lisina y ciclobenzaprina en voluntarios sanos.**

17.15 **Saavedra I.,** Gaete, I., Oksenberg, D., Manterola, J.L., Saavedra, M. (Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Bioequivalencia de una formulación Nacional de Claritromicina respecto del producto innovador.**

17.30 **Maya, J.,** Morello, A., Repetto, Y., Tellez, R., Rodríguez, A., Nuñez-Vergara, L., Squela, J., Bontá, M., Bollo, S. (Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Efecto de nitroderivados del megazol, nifurtimox y benznidazol sobre epimastigotes de *Trypanosoma cruzi*.**

17.45 **Moncada, C.,** Torres, V., Fuentes, N. (Laboratorio de Farmacoterapia Génica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéutica, Universidad de Chile). **Terapia génica de alcoholismo: determinación de actividad deshidrogenasa-adehídica-2 usando 14 C etanol.**

18.00 **Sapag, A.,** Urra, S., Moncada, C., Israel, Y. (Laboratorio de Farmacoterapia Génica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). **La deshidrogenasa aldehídica mitocondrial como blanco para terapia génica: clonamiento y secuenciación del gen de rata Lewis.**

18.15 **Rodríguez, J.,** Yañez, T., Bustamante, C., Loyola, J., Astudillo, L., Schmeda-Hischmann, G. (Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca). **Efecto gastroprotector de solidagenoma y ácido oleanólico en úlceras gástricas inducidas por etanol y aspirina en ratas.**

18.30 **Martin, N.,** Bardisa, L., Pantoja, C., Horta, P., Gallardo, A.M. (Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). **Inhibición del calcio explicaría los efectos depresores cardíacos del dializado de ajo (*Allium sativum*)**

18.45 **Lüders, C.,** Prieto, G.,Betancourt, L., Godoy, J., Moncada, M., Salinas, Y., Aguilera, A., Almonacid, M. (Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de Católica de Temuco). **Estudio farmacocinético y niveles tisulares de enrofloxacina en truchas *(Oncorhynchus mykiss)* tratadas con metomidato..**

20.00-21.00 **SALON PLENARIO**

CONFERENCIA INAUGURAL

Presenta: N. Inestrosa

MONCADA, S. (Wolfon Institute, University College London, U.K).

21.00-22.30 **CENA**

MIERCOLES 17 DE NOVIEMBRE

07.00-08.30 **DESAYUNO**

08.30-10.30 **SALON ARAUCANIA**

SIMPOSIO 1

PROTEOGLICANES: PARTICIPACION EN LA SEÑALIZACION VIA FACTORES DE CRECIMIENTO Y SU INTERACCION CON EL CITOESQUELETO, DURANTE EL DESARROLLO Y MALIGNIDAD.

Coordinador:. E. Brandan

Brandan E. (Department, of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Science, Catholic University of Chile). **Expression and function of proteoglycans during myogenesis.**

Carey, D. (Weis Center for Research, Penn State College of Medicine, Danville, P.A, USA) **Syndecans: Transmembrane linkers between the extracellular matrix and the cytoskeleton.**

Vilaró, S. , Granes, F., Contreras, H., Bernt, C., Reina, M. (Department of Cellular Biology, University of Barcelona, España) **The role of syndecans on cell migration.**

Schönherr, E., Levkau, B., Schefer, L., O'Connell, B.C. and **Kresse, H.** (Institute of Physiological Chemistry and Pathobiochemistry and Center of Internal Medicine, Univerity of Münster, Germany, National Institute of Dental and Craniofacial Research, National Institute of Health, Bethesda, MD.).**Influence on signal transdution in EA.HY 926 endothelial cells by virus-mediated decorin expression.**

Larraín, J., Bachiller, D., Lu. B., Agius, E., and De Robertis, E.M. (Howard Hughes Medical Institute and Department of Biological Chemistry, University of California, Los Angeles, CA). **A novel BMP-binding module: from chordin to procollagens**

SALON LONQUIMAY

SIMPOSIO 2

ECOLOGIA EVOLUTIVA DE LAS INTERACCIONES BIOLOGICAS

Coordinador: M. George-Nascimento

Gotelli, N.J. (Department of Biology, University of Vermont). **Effects of the red fire ant invasion on the community structure of North American Ant Faunas.**

Hochberg, M. (Structure et Fonctionnement des Systèmes Ecologiques, Université Paris VI, France). **The Geography of Symbiosis.**

Müller A. P. (Université Pierre et Marie Curie, France). **Parasitism and host sociability.**

Guégan J.F. (Laboratoire d'Ecologie, CNRS, Université Pierre et Marie Curie, France). **Parasite life history traits and species coexistence.**

Vásquez, R. (Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Evolutionary ecology of behavioural decisions in heterogeneous environment: predation risk, information use, and sociality.**

SALON COÑARIPE

SIMPOSIO 3
LEPTINAS: FUNCION REPRODUCTIVA Y OBESIDAD
SOCIEDAD DE FARMACOLOGIA DE CHILE
Coordinador: H. Lara

Mahesh, V.B. Zamorano, P.L., Cannady, W.E., De Sevilla, L. and Brann, D.W. (Department. Physiology and Endocrinology, Medical College of Georgia, Augusta, Georgia, USA). **Interrelashionship between reproductive hormones and adipose tissue.**

Zamorano, P. (Programa de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Terapia génica de leptina. ¿Tratamiento terapéutico de la obesidad?.**

Recabarren, S.E., **Sir-Peterman T.,** Lobos, A., Maliqueo, M., (Laboratorio de Endocrinología Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción, Chillán, Lab.Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile. **Leptina y señales metabólicas en el control de la pubertad.**

Lara H., Fiedler, J.L., Bustamante, D., Paredes, A. (Laboratorio de Neurobioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). **Leptina y efectos sobre la función ovárica**

10.30 – 11-.00 CAFE SALON CONGUILLIO

11.00 – 12.00 SALON LONQUIMAY

CONFERENCIA
Presenta: P. Ojeda

Yudilevich, D. (Instituto de Ciencias Biomédica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile).**Alexander von Humboldt y su viaje a América (1799-1804)**

11.00-12.30

INCORPORACIONES I SALON RANCO
Mesa: F. Barros
C. Hidalgo

11.00 **Reyes, A.E.,** e Inestrosa, N.C. (Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Inyección intracerebral en ratas de complejos de acetilcolinesterasa-Amiloide: caracterización morfológica y efecto en memoria espacial.**

11.30 **Aguilera, F.** (Departamento de Química Farmacológica, Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas Farmacéuticas, Universidad de Chile). **Melatonina ¿Hormona citoprotectora de estrés oxidativo en sistemas biológicos?**

12.00 **Bonansco, C.,** Borde, M. y Buño, W. (Instituto Cajal, CSIC, España, Facultad de Ciencias, Universidad de Playa Ancha, Chile). **Oscilaciones del potencial de membrana tipo theta inducidas por activación del receptor NMDA y estimulación sináptica en neuronas piramidales de CA1.**

12.00 - 13.00 SALON ARAUCANIA

CONFERENCIA
Presenta: G. Bustos

Belmar, J. (Laboratorio de Farmacología-Bioquímica, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Esteroides y Neuroesteroides. Acciones e interacciones en el sistema nervioso.**

12.00 - 13.00 **SALON COÑARIPE**

CONFERENCIA
Presenta. E. Brandan

Carey, D.J. (Weis Center for Research, Penn State College of Medicine, Danville PA). **Cell-extracellular matrix interactions in the developing peripheral nervous system.**

13.00 -14.30 **ALMUERZO**

14.30 -16.30 **COMUNICACIONES LIBRES**

BIOLOGIA CELULAR II **SALON ARAUCANIA**
Mesa: E. Brandan
J. Chianale

14.30 **Villena, J.** (Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **HGF/SF estimula la migración de células satélite musculares. Función de los proteoglicanos en este proceso.**

14.45 **Mardones, G.** y Mella, R.,(Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Identificación de una proteína-autoantigeno (P72) en el aparato de Golgi.**

15.00 **Almarza, C.** Foncea, R.(Laboratorio de Citología Bioquímica y Lípidos, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Efecto de homocisteina en la expresión de genes que regulan la biogenesis mitocondrial, en células endoteliales.**

15.15 **Wielandt, A.M.** Vollrath, Valeska, Chianale, J. (Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile). **Efecto de antioxidantes fenólicos sobre la expresión de los genes cMOAT, γ-GCS en el hígado del ratón**

15.30 **Carvajal, C.,** Leighton, F., (Laboratorio de Citología, Bioquímica y Lípidos, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Activación de hemo oxigenasa-1 (HSP-32) por homocisteína en células endoteliales humanas.**

15.45 **De Ioannes, A.,** Quezada, S., Garbarino, J., Ferreira, J.(Biosonda S.A., Eduardo Castillo Velasco 2902) **El alergeno del litre, (3.pentadecil (10-EN) catecol), se une covalentemente a proteínas de 30 Kda presentes en mitocondrias aisladas de hígado de rata.**

16.00 **Aguillón, J.C.,** Escobar, A., Ferreira, L., Colombo, A., Molina, M.C., Ferreira A. (Programa de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Variabilidad diurna de niveles plasmáticos y sobreexpresados del factor de necrosis tumoral humano.**

16.15 **Gatica, A.** (Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Formación de lípidos complejos derivados de drogas hipolipidemiantes en hepatocitos e hígado de rata.**

BIOQUIMICA III **SALON LONQUIMAY**
Mesa: P. Carvallo
F. Miquel

14.30 **Pérez, T.,** Villanueva, J. y Amthauer, R.(Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile). **Fosfatasa alcalina intestinal: ¿Un posible receptor para IgG?**

14.45 **Kettlun, A.M.,** Collados, L., Manami, R., Mercado, C., Macari, A., Cartier, L. (Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéutica, Universidad de Chile). **Actividad metaloproteinásica y sus proteínas reguladoras en líquido cefaloraquídeo de pacientes normales y con patologías inflamatorias.**

15.00 Brown, N.E., Molgo, M., González, S., Alvarez, M.C., **Ziegler, A.** (Programa de Cáncer, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile). **Pérdida de heterocigosidad en el cromosoma 3p en piel humana normal con exposición crónica al sol.**

15.15 **Moreno, M.** Miquel J.F., Wistuba, I., Behrens, C., Gazdar, A. (Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile). **Estudio de mutaciones puntuales de TP53 en lesiones malignas y premalignas de cáncer de vesícula biliar.**

15.30 **Gallardo, M.,** Egaña, L., Austin, D., Paredes, H., Ballesteros, G., Castillo, C., Cruz, a., Silva, M., Rousseau, C., King, M.C., Carvallo, P. (Laboratorio de Genética Molecular Humana, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas P. Universidad Católica de Chile). **Análisis genético molecular del gen BRCA 1 en treinta familias chilenas con cáncer mamario.**

15.45 **Espinosa, C.,** Sjoberg, M., Salazar, T., Cassorla, F., Merino, V. (Laboratorio de Genética Molecular Humana, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas P. Universidad Católica de Chile). **Una mutación con un probable ancestro mediterráneo en una familia chilena con sindrome de Laron.**

16.00 **Moraga, M.,** Morales, C., y Rothhammer, F., (Programa de Genética Humana, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Análisis genético molecular del DNA mitocodrial de momias y de dos poblaciones actuales del norte de Chile.**

16.15 Cantillana, C., **Garay, T.,** Gidekel, M., Herrera, R. (Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca e INIA, Carillanca). **Caracterización de polimorfismo genético generado por secuencias partidoras al azar en cultivares de cabernet, merlot y carmenere**

ECOLOGIA II **SALON COÑARIPE**

Mesa: M. George-Nascimento
M. Lima

14.30 **Lima, M.,** Stenseth, N.C., Yoccoz, N.G., Jaksic, F.M. (Departamento de Ciencias Ecológica, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Demografía y dinámica poblacional de la "Yaca" *(Thylamys elegans)* en Chile semiárido: estacionalidad , densodependencia y clima.**

14.45 **Rodriguez-Girones, M.A.** (Zoological Laboratory, University of Groningen, Holanda). **Peticiones de alimentación: comunicación y competencia entre hermanos.**

15.00 **Moreno. C.A.,** Duarte, W.,Guerra, J. (Instituto de Ecología y Evolución; Universidad Austral de Chile). **Variabilidad del reclutamiento de un depredador y cambios en la estructura comunitaria del intermareal rocoso.**

15.15 **Murúa, R.,** Figueroa, R. Y González, L.A. (Instituto de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencia, Universidad Austral de Chile). **Transmisión intra e interespecifica de hantavirus en roedores silvestres: hipótesis alternativa a los encuentros agonisticos.**

15.30 **Cornelius, C.,** Barbosa, O., Silva, C. Marquet, P.(Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Variación espacial y temporal de un ensamble de aves en un bosque relicto fragmentado en Chile semiárido.**

15.45 **Aldana, M.,** Pulgar, J., Ogalde, F, Ojeda, F.P. (Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Evidencia morfométrica, dietaria y parasitológica de variación ontogenetica y geográfica en el estado trofico de peces intermareales.**

16.00 **Smith, C.** (Departamento de Ecología, Facultad de Ciencia, Universidad de Chile). **Selección fenotípica secuencial en rasgos reproductivos.**

16.15 **Soto, R.E.** (Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Riesgo y decisiones conductuales asociadas al forrajeo del gastrópodo intermareal *Nucella crassilabrum.***

16.30-17.00 CAFE **SALON CONGUILLIO**

17.00-19.00 **COMUNICACIONES LIBRES**

BIOLOGIA CELULAR III **SALON ARAUCANIA**

Mesa: R. Foster
S. Lavandero

17.00 Rodríguez, P.H., Vera, J.C. y **Reyes, A.M.** (Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile). **El Transporte de D-manosa ocurre a través de los transportadores GLUTs.**

17.15 **Miranda, S.,** Zambrano, C., Rigotti, A. (Laboratorio de Citología Bioquímica y Lípidos, Facultad de Ciencias Biológicas P. Universidad Católica de Chile). **Expresión del receptor scavenger clase B tipo I (SR-BI) en células endoteliales humanas.**

17.30 **Tapia, L.,** Uauy, R.(Laboratorio de Biología Molecular, INTA, Universidad de Chile). **Función de las metalotioneínas en la regulación del manejo del Cu intracelular.**

17.45 **Foster, R.,** Alarcón, J., Casado, A., Catalán, L., Estrada, M., Pino, M. y Gaete, F.(Programa de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Participación de proteínas fosfatasas en el control de la secreción de aldosterona.**

18.00 **Eltit, J.M.** ,Ocaranza, P., Morales, M.P., Calixto, A., Gálvez, A., Lavandero, S. (Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). **IGF-1 previene la apoptosis inducida por distintos agentes en cultivos primarios de cardiomiocitos de rata neonata.**

18.15 **Utreras, E.**, Ojeda, S., González, J., Villalón, M., Croxatto, H., (Unidad de Reproducción y Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Expresión del ARNm de la conexina 43 (Cx43) en el oviducto de la rata.**

18.30 **Ferreira, J.**, Griño, B., Gajardo, P., Pavani, M., Pérez, C., Guerrero, A., Repetto, Y., Cordano, G., Rivera, E., Muñoz, S. y Medina, J.(Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina y Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). **Efecto de varios ésteres del ácido 2,6-dihidroxi-4-caroxifenoxiacetico (Dihicarfacet) sobre la respiración de células tumorales de ratón.**

18.45 **Becker, M.I.**, Infante, C., Valenzuela, R., De Ioannes, A.(Biosonda, S.A. Eduardo Castillo Velasco 2902, Ñuñoa). **Caracterización fisicoquímica e inmunoquímica de hemocianina de *Concholepas concholepas*.**

BIOQUIMICA IV **SALON LONQUIMAY**

MESA: M. Imschenetzky
E. Cardemil

17.00 **Yevenes,A.**,Jabalquinto, A.M. y Cardemil E.(Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología).**Expresión del gen de la carboxiquinasa fosfoenolpirúvica de *Trypanosoma brucei* en *Saccharomyces cerevisiae*.**

17.15 **Gutiérrez, J.**(Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). **Factores de transcripción de la familia CBF/AML/PEBO2 interactuan con nucleosomas reconstituidos que incluyen secuencias para la expresión tejido-específica del gen de osteocalcina.**

17.30 **Paredes,R.**,Imschenetzky,M., Montecino, M.(Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). **Estudio de la unión del receptor de 1,25-dihidroxivitamina D3 a la región promotora distal del gen de osteocalcina de rata *in vitro*.**

17.45 **Medina, R.**(Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Universidad de Concepción). **La hipersensibilidad a DNAsa I en el promotor del gen de la histona temprana H3 del erizo de mar *Tetrapygus niger* está asociada con la unión de factores de transcripción especificos.**

18.00 **Sierra, J.** Puchi, M., Montecino, M.(Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). **Importancia de la disposición modular de elementos regulatorios en el promotor de osteocalcina.**

18.15 **Cabrejos, M.E.** Morales, C.H. Serrá A., Soto, X., y Tamayo, E. (Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Descripción de un complejo de RNA polimerasa II humano que contiene enzimas que modifican el transcrito primario y oncoproteínas virales.**

18.30 **Villegas, J.** Arredondo, J., Müller, I, y Burzio, L.O.(BiosChile I.G.S.A. y Fundación Ciencia para la Vida). **Reacción de edición de U a C en un transcrito quimérico mitocondrial de ratón.**

18.45 **Kausel, G.**, Leal, S., Quezada, C., Vera, M.I.(Universidad Andrés Bello). **La expresión de CK2ß de carpa se modula estacionalmente.**

FARMACOLOGIA II **SALON COÑARIPE**

Mesa: R.Soto-Moyano
K. Gysling

17.00 Moncada, M., **Hernández, A.**, Soto-Moyano, R., Pelissier, T. (Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Químicas y Biología, Univeresidad de Santiago de Chile). **Efecto de clomipramina en ratas normales y monoartríticas: Estudio algesimétrico y electrofisiológico.**

17.15 **Sepúlveda, M.J.**, Sillaber, I, and Spanagel, R. (Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción y Max Planck Institute of Psychistry, Munich, Germany).**Sensibilización inducida por morfina en ratones carentes del receptor CRH1.**

17.30 **Bustamante, D.**, Paeile, C., Pelissier, T. (Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Acción analgésica central de anti-inflamatorios no esteroidales en ratas con dolor crónico.**

17.45 **Pelissier, T.**, Pajot, J., Dellel, R. (Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Lab. Physiologie Orofaciale, Fac. Chrirugie Dentaire, Clermont-Ferrand, Francia). **Un nuevo test de dolor orofacial: efecto de diferentes concentraciones de capsaicina.**

18.00 **Abarca, J.**, Gysling, K., Bustos, G. (Laboratorio de Farmacología Bioquímica, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológica, P. Universidad Católica de Chile). **Modulación de la expresión neuroquímica de la vía estriato-nigral por lesiones dopaminérgicas parciales. Estudios "in vivo" con microdiálisis cerebral.**

18.15 **Magendzo, K.**, Bustos, G. (Laboratorio de Farmacología Bioquímica, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológica, P. Universidad Católica de Chile).**Efecto de un oligonucleotido antisense para el receptor opioide , sobre la actividad locomotora inducida por anfetamina.**

18.30 **Haeger, P.,** Escobar, J., Forray, M.I., Gysling, K. ((Laboratorio de Farmacología Bioquímica, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológica, P. Universidad Católica de Chile). **Determinación cuantitativa de ARNm para el factor liberador de corticotrofina en el cerebro de la rata.**

18.45 **Castro, T.,** Astuya, A., Rudolph, M.I. (Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). **Interacción fisiológica y estructural entre nervios adrenérgicos y mastocitos en útero de ratón**

FISIOLOGIA VEGETAL-BOTANICA **SALON RANCO**

Mesa: G. Zúñiga
P. Arce

17.00 **Zúñiga, G.E.**(Laboratorio de Fisiología Vegetal, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile), **Producción de compuestos bioactivos mediante el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales.**

17.15 **Lehner, G.**, Delatorre, J., Cardemil, L. y Lütz, C.(Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Departamento de Agricultura del Desierto, Universidad Arturo Prat y Ludwing Maximilianm Universidad de München).**Estudios de campo de la fotosíntesis de dos plantas chilenas del desierto, *Prosopis chilensis y Prosopis tamarugo*.**

17.30 **Prehn, D.,** Mercado, A., Serrano, C., Delgado, J., Arce, P. (Departamento de Ciencias de los Recursos Naturales, Unidad de Biotecnología, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, P. Universidad Católica de Chile). **Inducción de plantas completas a partir del cultivo in vitro de meristemas aisladas de *Pinus radiata***

17.45 **San Martín, C.,** Subiabre, M.(Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile). **Clasificación y ordenación multivariada de un gradiente vegetacional de marisma.**

18.00 **Cavieres, L.** Baeza, C.M., Marticorena, C., Rodríguez R.(Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción) **Análisis de simplicidad de endemismos en la flora de VIII región del Bio-Bio, Chile.**

18.15 **Marticorena, A.** y Cavieres, L. .(Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepcion). **Análisis filogenético de las especies chilenas del género *Acaena* (Rosaceae).**

18.30 **Rasmussen-Poblete, S.**, Escobar, J., Zúñiga, G.E.(Laboratorio de Fisiología Vegetal, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile). **Actividades antioxidantes en *Deschampsia antarctica.***

18.45 **López-Cortés, F.J.,** Gutierrez, J.R.(Departamento de Biología, Facultad de Ciencia, Universidad de la Serena). **Composición química del suelo y vegetación en la localidad costera de Paposo, II Región, Chile.**

19.00-20.00 **SALON PUYEHUE**

SESION DE PANELES I
Coordinadores: P. Carvallo - J. Puente

Biología Celular - Panel 1 al 22
Biomedicina - Panel 23 al 34
Genética Humana - Panel 35 al 42
Misceláneos - Panel 43 al 49

20.00-21.00 **SALON PLENARIO**

CONFERENCIA HERMAN NIEMEYER
Presenta: N. Inestrosa

Soreq, H. (Department of Biological Chemistry, The Life Sciences Institute, The Hebrew Univerity of Jerusalem, Israel). **New Functions for an old Enzyme.**

21.00-22.00 **CENA**

JUEVES 18 DE NOVIEMBRE

07.00-08.30 **DESAYUNO**

08.30-10.30 **SALON ARAUCANIA**

SIMPOSIO 4
AVANCES RECIENTES EN NEUROBIOLOGIA MOLECULAR
Coordinador: N. Inestrosa .

Rubinstein M., Gelman, D. and Falzone, T. (Instituto de Ingeniería Genética y Biotecnología, CONICET Buenos Aires, Argentina). **Targeting mutations to the mouse dopamine d2 receptor gene.**

Cuello A.C. (Department of Pharmacology & Therapeutic, McGill University, Montreal Canadá). **Cortical cellular and Synaptic features in mice and rat Alzheimer's Disease transgenic models.**

Bronfman F. Dewachter, I., Spittaels, K., Tesseur, I., Van Diorpe, J., Van den Haute, C. and Van Leuven F. (Experimental Genetics Group, Center for Human Genetic, Flemish Institutoe for Biotechnology, K.U. Leuven, Campus Gasthuisberg, Belgium). **Transgenic mice in Alzheimer's disease. Emphasis on the cholinergic system.**

Soreq, H. (Department of Biological Chemistry, The Life Sciences Institute, The Hebrew University of Jerusalem, Israel). **AChE induces cognitive deterioration**

SALON LONQUIMAY

SIMPOSIO 5
MECANISMOS DE EXPRESION GENICA EN CELULAS VEGETALES
Coordinador: L. Holuigue

Farré J.C., Bégu D., Blanc, V. y **Araya A.** (Laboratoire de Réplication et Expression des Génes Eukaryotes et Rétroviraux, CNRS et Université Victor Segalen-Bordeaux II Bordeaux, Francia) **Edición del RNA en organelos de plantas superiores**

Jordana, X., Figueroa, P., Gómez, I. y Carmona, R. (Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile).**Las plantas como modelo de estudio de la transferencia evolutiva de genes desde la mitocondria al núcleo.**

Holuigue, L., Garretón, V., Hidalgo, P., Carpinelli, J., Salinas, P.(Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Mecanismo de activación transcripcional de genes de defensa a estrés oxidativo por ácido salicílico y auxinas en tabaco.**

Orellana, A., González, S., Yuseff, M.I. and Silva, H. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Análisis de la expresión de genes que codifican para proteínas de Golgi involucradas en la síntesis de polisacáridos de pared celular.**

8.30-10.30

INCORPORACIONES II **SALON COÑARIPE**

Mesa: L.M. Pérez
O. Monasterio

8.30 **Pimentel, A.** (Departamento de Química Farmacológica, Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas Farmacéuticas, Universidad de Chile). **Microsomas de hígado de rata sometido a estrés oxidativo. Acción antioxidante de leucoselect**

9.00 **Rocco, P.,** Vainzof, M., Froehner, S.C., Marie, S.K.N., Passos-Bueno, M.R., Kunkel, L.M. y Zatz, M.,(Dept. of Biology, U. de Sao Paulo, Depto. Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Universidad de Sao Paulo, School of Medicine, Chape Hill, Howard Hughes Medical Institute, Children's Hospital, Boston) **Paraplegia espástica autosómica dominante tipo pura ligada al cromosoma 8q en una familia brasilera:Análisis de la sintrofina beta 1 en músculo.**

9.30 **Figueroa, J.E.,** Kausel, G., Barra, V., Fernández, K., Muñoz, D.(Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia). **Caracterización de la expresión de prolactina del pez teleósteo *Cyprinus carpio***

INCORPORACIONES III **SALON RANCO**

Mesa: C. Moreno
R. Vásquez

8.30 **Rezende, E.L.,**Novoa, F.F. y Bozinovic, F., (Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Metabolismo máximo y basal en endotermos:implicancias sobre límites de distribución.**

9.00 **Soto-Gamboa, M.,** Rosenmann, M. y Bozinovic, F. (Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Ecología térmica del pingüino de Humboldt (*Spheniscus humboldti*): efecto de la selección de sitios de nidificación sobre la sobrevivencia de adultos y crías,**

9.30 **Palma, A.T.,** Steneck, R.S (Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile y Darling Marine Center, University of Maine, Walpole, USA). **Polillas de mar: es la coloración variable en jaivas juveniles un agente de protección contra de la depredación?**

10.00 **Poulin, E., Féral, J.P., Cornudella, L., Alva, V.,** (Departamento de Ecología, P. Universidad Católica de Chile, Observatoire Océanologique, Banyuls-sur-Mer, Francia, Department of Molecular and Cellular Biology, CID-CSIC, Barcelona, España, Instituto de Ciencias del Mar, CSIC, Barcelona, España). **Autofecundación y alofecundación en el ofiuro incubante *Amphipholis squamata*.**

10.30-11.00 CAFE **SALON CONGUILLIO**

11.00-12.30

INCORPORACIONES IV **SALON LONQUIMAY**

Mesa: P. Ojeda
E. Palma

11.00 **Bacigalupe, L.D.,**Rezende, E.L. y Bozinovic, F. (Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile).**Variabilidad espacial y temporal en la actividad y uso del espacio en *Octodon degus*: ¿Un compromiso entre termorregulación y disponibilidad de alimento?**

11.30 **Parra, L.E.** (Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción). **Revisión y filogenia de los géneros de *Lithinini* de Sudamérica austral (Lepidoptera:Geometridae)**

13.00 **Ruiz, E.,**González, F., Marticorena, C., Silva, M., Becerra, J. (Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Concepción). **Divergencia evolutiva de la flora vascular endémica de Juan Fernández.**

11.00-12.30

INCORPORACIONES V **SALON RANCO**

Mesa: R. Lagos
M. Carú

11.00 **Figueroa, X.F.**, González, D. R., Bravo, J.A. Boric, M.P.(Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Translocación de NO sintasa endotelial (eNOS) y dependencia del calcio en la producción de NO inducida por flujo en vasos de resistencia intactos.**

11.30 **Seeger, M.,** Zielinski, M., Timmis, K.N. y Hofer, B. (Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Division of Microbiology, Gesellschaft für Biotechnologische Forschung, Braunschweig, Germany). **Regioespecificidad de la dioxigenación de policlorobifenilos y su degradación por la vía metabólica codificada en el locus *bph* de *Burkholderia* sp. LB400.**

12.00 **Velarde, V.,** Ullian, M.E., Morinelli, T.A., Mayfield, R.K., Jaffa, A.A.(Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad de Chile, Departamento de Medicina, Medical University of South Carolina). **Mecanismos de activación de MAPK por bradicinina en células de músculo liso vascular de rata.**

12.00-13.00 **SALON ARAUCANIA**

CONFERENCIA
Presenta: M. George-Nascimento

Müller, A.P.(Laboratoire d'Ecologie, Université Pierre et Marie Curie, France).**Sexual selection, extinction, speciation and conservation.**

12.00-13.00 **SALON COÑARIPE**

CONFERENCIA LUIS IZQUIERDO FERNANDEZ
Presenta: R. Mayor

Vial, J.D. (P.Universidad Católica de Chile).La Invención de la Célula.

13.00-14.30 **ALMUERZO**

14.30-16.30 **COMUNICACIONES LIBRES**

BIOLOGIA CELULAR IV **SALON ARAUCANIA**
Mesa: E. Rojas
J. Krsulovic

14.30 **Opazo, C.**y Vásquez, M.C. (Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Efecto del cobre en la formación de fibras de amiloide**

14.45 **Krsulovic, J.,** (Departamento de Biología, ICBQ, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso). **Origen y significado de cuerpos densos, inclusiones lípidicas o gotas de grasa presentes en el pericarion de los pituicitos de la rata**

15.00 **Sánchez, F.** Soza, A., Bravo M., González, A. (Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Diferente regionalización de isoformas de receptores opioides en la superficie de células MDCK transfectadas.**

15.15 **Benavides, E.,** Miranda, M., Alvarez, J. (Unidad de Neurobiología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Papel de los canales de calcio tipo L en el fenotipo del raton Wlds**

15.30 **Henríquez, J.P.** (Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, P. Universidad Católica de Chile). **Histona H1.3 es un ligando endógeno de proteoglicanes de heparan sulfato en la matriz extracelular de miotubos.**

15.45 **Stutzin, A.** Sepúlveda, F.V., Cid, L.P. Torre, R.T. (Instituto de Ciencias Biomédicas, Programa de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile), **Canales de cloruro y de osmolitos orgánicos osmosensibles en células epiteliales**

16.00 **Brito, J.** Rojas, E.(Departamento de Morfología, I.C.B.M.,Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Influencia de estrés hipoglicémico sobre la respuesta de calcio inducida por el péptido amiloide beta 1-40 y carbamilcolina.**

16.15 **Aldunate, R.,** Koenig, J. (Departamento de Biología Celular y Molecular, P. Universidad Católica de Chile), Laboratoire de Neurobiologie Cellulaire, Université Bordeaux II, Francia.) **CGRP induce la expresión y la transcripción del gen de la acetilcolinesterasa en cultivos de miotubos de rata, pero no en presencia de motoneuronas.**

BIOQUIMICA V **SALON LONQUIMAY**
Mesa: C. Hidalgo
I. Concha

14.30 **Beltrán, M.,** Hidalgo, C. (ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile).**Cinética de asociación y disociación de la unión de calcio a calsecuestrina.**

14.45 **Barrera, A.,** Estrada, M.I. y Jaimovich, E. (Programa de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Epinefrina produce aumento de Ca+2 intracelular en células de músculo esquelético.**

15.00 **Kessi, E.,** Preller, A. y Ureta, T.(Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile). **Compartimentación metabólica en la síntesis de glicógeno en oocitos de anfibio.**

15.15 **Barrientos, G.,** Hidalgo, C. (ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Presencia de las quinasas de diacilglicerol y fosfatidil inositol en vesículas de tríadas de músculo esquelético de mamífero.**

15.30 **Zambrano, A.,** Werner, E., Brito, M. y Concha, I. (Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile).**Receptores GM-CSF de alta afinidad señalizan un aumento de la capacitación de vitamina C en espermatozoides.**

15.45 Guerrero, C., Retamal, M. y **Preller, A.** (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile).**Glucosa-6-P deshidrogenasa de oocitos de anfibio, sitio de control del flujo de glucosa por la vía de las pentosas-P.**

16.00 **Valencia, P.**, Sotomayor, C., González, G. (Instituto de Química, Facultad de Ciencias Básicas y Matemáticas, Universidad Católica de Valparaíso). **Efecto de colesterol en las propiedades de la fase lipídica y la actividad de la beta hidroxibutirato deshidrogenasa en vesiculas unilamelares en mitocondrias de corazón de bovino.**

16.15 **Hetz, C.,** Bono, M.R., Barros, F. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Caracterización del efecto citotóxico de la microcina E492 sobre varias líneas celulares.**

ECOLOGIA III **SALON COÑARIPE**
Mesa: J. Simonetti
P. Sabat

14.30 **Opazo, J.C.,** Vásquez, R.A. , Bozinovic, F.(Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológica, P. Universidad Católica de Chile). **Energética de la explotación de parches en *Octodon degus* (Rodentia:Octodontidae)**

14.45 **Guerra, J.** y Moreno, C.(Instituto de Ecología y Evolución, Universidad Austral de Chile). **Patrones de respuesta a la perturbación humana sobre la comunidad intermareal, desde un enfoque multivariado.**

15.00 **Sabat, P.**(Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Osmoregulación y flexibilidad ecológica en *Cinclodes*.**

15.15 **Cecchi, C.,**Vasquez, R.A. (Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Explotación de parches y eficiencia de forrajeo en dos aves icterínidas.**

15.30 **Habit, E.,** Victoriano, P. y Zamorano, E. (Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceaográficas, Universidad de Concepción). **Variaciones espaciales de la estructura del ensamble de peces en el estero Nonguén (VII Región).**

15.45 **Simonetti, J.,** Bustamante, R.O., Morales, M.M. y Grez, A.A. (Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Regeneración de *Astrocaryum gratum* (palmae) en bosques fragmentados.**

16.00 **Angel, A.**(Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Variaciones temporales en la composición y abundancia de dos ensambles de peces submareales en la costa norte de Chile: un enfoque trófico.**

16.15 **Labra, F..** (Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **La supertransiente: dinámica espacio-temporal en metapoblaciones.**

16.30 -17.00 CAFE **SALON CONGUILLIO**

17.00 -19.00 **COMUNICACIONES LIBRES**

BIOLOGÍA CELULAR V **SALON ARAUCANIA**
Mesa: F. Leigthon
J. Fernández

17.00 Cantillana, V., Urrutia, M., Ubilla, A. Y **Fernández, J.** (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **El zigoto de la sanguijuela incluye numerosos centros de organización del citoesqueleto (Citasteres) encargados de la acumulacíón y translado bipolar de organelos.**

17.15 **Soto, C.,** Quevedo, L., Valdivia, R., Katoh, M.(Area Biología Molecular, Departamento de Patología, Facultad de Odontología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Anulación del gen de la amelogenina en células embrionarias troncales (ES Cell) de ratón.**

17.30 **Osses, N.** (Unidad de Neurobiología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Cambios en la población celular en respuesta a modificación de la matriz extracelular durante la diferenciación de mioblastos C2 C 12**

17.45 **Nelson, P.**, Cabello, A. Garrido, J. (Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P Universidad Católica de Chile). **Factores de crecimiento, proliferación y diferenciación en células epiteliales gástricas de rata ERG-1.**

18.00 **Bustamante, E.** Palomino, J., Amoroso, A., Barros, C. (Laboratorio de Embriología, Facultad de Ciencias Biológica, P. Universidad Católica de Chile). **Caracterizaión de la actividad tipo tripsina del espermatozoide del camarón de roca *Rhynchocinetes typus*.**

18.15 **Schöbitz, K.** (Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile). **La exposición del órgano subcomisural (OSC) a un anticuerpo contra sus proteínas secretoras (AFRU) altera la liberación de estas proteínas.**

18.30 **Riquelme, C.**, Brandan, E. (Unidad de Neurobiología Molecular, Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencia Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Inhibición de la expresión de decorina acelera la diferenciación muscular y aumenta la unión de TGF-ß2 a betaglicán.**

18.45 **Palomino, J.**, Bustamante, E., Barros, C. (Laboratorio de Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Fecundación in vitro en *Rhynchocinetes typus*: Técnica de fecundación y efecto de cubiertas ovocitarias solubilizadas.**

BIOQUIMICA VI **SALON LONQUIMAY**

Mesa : M. Bunster
J. Babul

17.00 **Torres, C.,** Monasterio, O.(Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Propiedades de la unión de calcio a la región carboxilo terminal de la tubulina.**

17.15 **Salas, M.,** Rodríguez, R., Canales, M., Carvajal, N.(Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, EMBL-Heidelberg, Alemania.). **Un modelo estructural para la agmatinasa de *Escherichia coli.***

17.30 **Bruna, C.,** Martínez, J y Bunsters, M.(Laboratorio de Biofísica Molecular, Departamento de Biología Molecular, Universidad de Concepción). **Estudio del proceso de empaquetamiento de ficobiliproteinas: R-ficoeritrina**

17.45 **Ruiz, F.H.** y Silva, E. (Facultad de Ciencias Biológicas, y Facultad de Química, P. Universidad Católica de Chile). **La proteína prion (PrP59-91) reduce cobre:papel de los residuos del triptofano en la reacción de oxido-reducción.**

18.00 **Tapia, C.,** Mansilla, K., Vera, J., Roth, M. y León, O.(Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile). **Estudios de fotoentrecruzamiento en integrasa del virus de leucemia murina MO-MulV.**

18.15 **Deprez. P.,** Krejci, E., Massoulié, J., Brodsky, B.,Inestrosa, N.C.(Departamento de Biología Celular y Molecular, P. Universidad Católica de Chile, Department of Biochemistry, UMDNJ-Robert Wood Johnson Medical School, Piscataway, N.J. y Laboratorio de Neurobiologie Cellulaire et Moléculaire, ENS,Paris, Francia). **Interacción del tallo colagenoso de la acetilcolinesterasa asimétrica con heparina.**

18.30 **Guixé, V.,** Babul, J.(Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Disociación de subunidades de fosfofructoquinasa-2 de *E. coli* por modificación química de grupos sulfhidrilos.**

18.45 **Baez, M.,**Rodríguez, P., Guíxé, V. y Babul, J.(Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Desnaturación de fosfofructoquinasa-2 de *E.coli* a partir de distintos estados de agregación inducidos por ligandos.**

ZOOLOGIA I **SALON COÑARIPE**

Mesa: M. Gallardo
R. Soto

17.00 **Veloso, C.,** Place, N.J., Kenagy, J. (Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Composición química de la leche y estrategias de historia de vida: una comparación entre los roedores *Octodon degus* (precocial) y *Tamias amoenus* (altricial).**

17.15 **Brieva, L.** (Instituto de Zoología, Universidad Austral de Chile). **Genética poblacional de la rana chilena *Telmatobufo australis* (Leptodactylidae).**

17.30 **Jiménez, M.** (Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción). **Evaluación del estado de conservación de las aves de humedal de la Región del Bio-Bio.**

17.45 **Rivera-Milla, E.** Palmar, R.E., Yates, T.L.(Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Relaciones filogenéticas y biogeográficas del género *Thylamys* (Didelphimorphia, Didelphidae) en el sur de Sudamérica**

18.00 **Palma, E.R.,** Marin, J.C., Spotorno, A., Galaz, J.L.(Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Filogenia molecular de las subespecies de *Lama* y *Vicugna* (Camelidae) reconocidas en Chile.**

18.15 **Soto, E.R.,** Méndez, M., Veloso, A. (Laboratorio de Vertebrados, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Diferenciación genética entre poblaciones de *B.spinulosus* (Anura-Bufonidae) en Chile.**

18.30 **Cuevas, C.** (Instituto de Zoología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile). **Comparación cromosómica en los anuros del género *Telmatobufo* (Leptodactylidae).**

18.45 **Gallardo, M.,** Bickman, J. y Honeycutt, R. (Instituto de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile). **Evolución del tamaño del genoma y poliploidía en roedores.**

FARMACOLOGIA III **SALON RANCO**

Mesa: L. Videla
H. Speisky

17.00 **Letelier, M.E.,** Pino, P., Jiménez, I. y Speisky, H.(Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). **Efecto de Fe^{3+}/Ascorbato sobre la UDP-glucuroniltrasferasa microsómica de hígado de rata.**

17.15 **Marín-Catalán, R.,** Salazar, J., Pérez, P., Fuentes, R., Urzúa, L. y Letelier, M.E.(Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). **Lipoperoxidación inducida por Cu^{2+}/Ascorbato en Microsomas de hígado de rata.**

17.30 **Rodrigo, R.**, Guajardo, V., Campos, O. y Orellana, B.M. (ICBM, Programa de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Metabolismo microsomal de etanol en riñon de ratas alcohólicas.**

17.45 Vega, P., **del Villar, E.,** Valdés, E. y Sánchez, M.(Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Diabetes experimental: alteraciones en el sistema microsomal hepático del metabolismo de drogas.**

18.00 **Tapia, G.,** y Videla, L.A. (Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Generación de superóxido (O_2) mitocondrial bajo la influencia de Fe en ratas hipertiroideas o tratadas con líndano.**

18.15 **Massa, L.,** Fernández, V. (ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Actividad microsomal hepática en ratas hipertiroídeas con sobrecarga aguda de Fe.**

18.30 **Fernández, V.,** Cornejo, P., Videla, L. (ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Influencia de una sobrecarga de Fe y su interacción con el hipertiroidismo e intoxicación con lindano, en la producción hepática de óxido nítrico (NO).**

18.45 **Carrion, Y.,** Boisier, X., Tapia, G., ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Correlación entre la actividad de mieloperoxidasa hepática (MPO) y el eflujo sinusoidal de deshidrogenasa láctica (LDH) en ratas hipertiroideas con sobrecarga aguda de hierro (Fe)**

19.00-20.00 **SALON PUYEHUE**

SESION PANELES II
Coordinadores: M. George-Nascimento - R. Ginocchio

Ecología - Panel 50 al 67
Ecofisiología Vegetal-Botánica - Panel 68 al 75
Farmacología- - Panel 76 al 86
Biotecnología - Panel 87 al 93

20.00-21.00 **SALON PLENARIO**

Premios Fundación para Biología Celular Mejores Tesis

21.00 - 22.30 **CENA**

VIERNES 19 DE NOVIEMBRE

07.00 - 08.30 **DESAYUNO**

8.30 -10.30 **SALON ARAUCANIA**

SIMPOSIO 6
MECANISMOS MOLECULARES Y CELULARES DE LA NEURODEGENERACION
SOCIEDAD DE FARMACOLOGIA DE CHILE
Coordinador: S. Mora

Bustos, G (P. Universidad Católica de Chile). **Dopamina,receptores NMDA y factores neurotróficos durante los fenómenos de plasticidad y adaptación neuronal en un Modelo de Enfermedad de Parkinson**

Segura-Aguilar, J. Arriagada, C., Dagnino-Subiabre, A., Caviedes, P., Armero, J.M., Caviedes, R., Baez, S.(Program of Molecular and Clinical Pharmacology, ICBM, Faculty of Medicie, and Program of Morphology, ICBM, Faculty of Medicine, University of Chile, Unit of biochemical Toxicty, Wallenberg Laboratory, Stocholm University , Sweden).. **The possible role of one-electron reduction of aminochrome in the neurodegeneration of the dopaminergic systems.**

Caviedes P., Cárdenas, A.M. Arriagada, C., Cortés, J.F.,Alvarez, R.N., Rapoport, S., Shimahar, T.,Caviedes, R.(Programa de Morfología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile Laboratorio de Farmacología, Escuela de Medicina, Universidad de Valparaíso, LNS/NIA/NIH, USA, NBCM,CNRS, Centro de Estudios Científicos de Santiago). **Modelos celulares inmortales para el estudio de mecanismos de neurodegeneración. Aplicación al síndrome de Down, enfermedad de Alzheimer y Parkinson.**

Gómez, A. Díaz L., (Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad de Chile). **Modulación presináptica de la liberación de aminoácidos excitatorios evocada por hipoxia desde rebanada de estriado de rata en superfusión.**

8.30 -10.30 **SALON LONQUIMAY**

SIMPOSIO 7
IMAGENES EN BIOLOGIA
Coordinadores: O. Monasterio - J.C. Slebe

Berliner L.J.. and Fuji, H.(Department of Chemistry, The Ohio State University, Columbus, Ohio, U:S:A.) **Use of localized ESR (EPR) spectroscopy to uncover the origins of pathological and environmental bioradicals.**

García Ramos J. V.. (Instituto de Estructura de la Materia, CSIC, Madrid, España) **Raman microscopy: from concept to applications in biology and medicine.**

Hansma H. , Chen, C., Golan, R., Pietrasanta, L., Sorenson, C., Auerbach, I. and Holden, P. (Department of Physics and School of Environmental Science & Management,, University of California, Santa Barbara, California, U.S.A.) **Probing biomaterials with the atomic force microscope.**

Mueller, J.D. (Department of Physics, LFD, Univeristy of Illinois at Urbana-champaign Urbana, USA). **Two-Photon fluorescence microscopy: imaging and spectroscopy.**

Panepucci, H. (Instituto de Física, Universidad de San Carlos, Sao Paulo, Brasil). **Imaging by Nuclear Magnetic Resonance, Principles and Applications.**

08.00 -10.30 **SALON COÑARIPE**

SIMPOSIO 8
USO DE LA TOXICOLOGIA MECANISTICA EN EVALUACION DE RIESGO DE AGENTES QUIMICOS AMBIENTALES.
Coordinador:. Lionel Gil

Dekant, W. . (Deparment of Toxicology, University of Wurzburg, Germany). **Use of Mechanistic information in Risk Assessment.**

Manno, M. (University of Padua, Italy). **Extrapolation Threshold. Use of Mechanistic Information.**

Berthou , F. Lucas, D., Gil, L., Albores, A. (Laboratoire de Biochimie, Faculté de Medecine,University of Breast, France, Laboratorio de Bioquímica y Toxicología Ambiental, Universidad de Chile). **Genetic Polymorphisms of phase I and II enzymes in Human risk assessment.**

Gil, L., Adonis, M. (ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Marcadores Biológicos y Químicos de Exposición y Riesgo Utilizados en Evaluación de Riesgo Ambiental**

10.30 -11.00 CAFE **SALON CONGUILLIO**

11.00 -12.00 **SALON LONQUIMAY**

CONFERENCIA OSVALDO CORI M.
Presenta: O. Orellana . J.C. Slebe

Söll. D.G (Department of Molecular Biophysics and Biochemistry and Department of Molecullar, Cellular and Developmental Biology, Yale University, USA.) **Genomics and the diversity of the translational components**

12.00 -13.00 **SALON ARAUCANIA**

CONFERENCIA PABMB.
Presenta: M. Krauskopf

Wolosiuk R.A., Paula D. Duek, Santiago Mora-García. Fundación Campomar, Buenos Aires, Argentina. **Modulacion de la afinidad de la tiorredoxina por las proteinas sustrato.**

12.00 -13.00 **SALON COÑARIPE**

CONFERENCIAS

SOCIEDAD DE FARMACOLOGIA DE CHILE
Presenta: S. Mora

Jurkiewicz, A. (Escola Paulista de Medicina, Sao Paulo, Brasil). En homenaje al Prof. Dr. Jorge Mardones R. (QEPD). **New concepts to explain new and old experiments on drug-receptor interaction: the stimulus-effect relationship revisited.**

13.00 -14.30 **ALMUERZO**

14.30 -16.30 **COMUNICACIONES LIBRES**

BIOLOGIA CELULAR VI **SALON ARAUCANIA**
Mesa: M. Rosemblatt
J.Minguell

14.30 Conget, P., **Minguell, J.J.** (Laboratorio de Biología Celular, INTA, Universidad de Chile), **En búsqueda de la verdadera célula troncal mesenquimática.**

14.45 **Erices, A.** (Laboratorio de Biología Celular, INTA, Universidad de Chile). **Células progenitoras mesenqumáticas en sangre de cordón umbilical humana**

15.00 **Metz, C.,** Massardo, L., y Jacobelli, S. (Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile). **Alteración de la función de la proteína c-Rel en mononucleares de sangre periférica (MNSP) de pacientes con lupus eritematoso generalizado (LEG)**

15.15 **Leyton, L.,**Schneider, P., Quest, A. Bron, C.(ICBM Facultad de Medicina, Universidad de Chile, The Institute of Biochemistry, University of Lausanne, Switzerland, Supported by the Swiss National Foundation, LL supported by FEBS (Europe) and DID (Chile). **Identificación de un ligando en astrocitos para la proteína anclada con glicolípido, THY-1**

15.30 **Mora, J.R.,** Bono, M.R., y Rosemblatt, M. (Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Fundación Ciencia para la Vida). **Papel de las células dendriticas en la inducción diferencial de la integrina de homing tejido-especifica 47 en linfocitos T de ratón.**

15.45 **Reyes, X.** Simon, V., Alarcón. G., Fernández, M. (Unidad de Biología Celular, INTA, Universidad de Chile). **En el mieloma múltiple , el estroma de la médula ósea contribuye a la proliferación de la célula plasmática maligna**

16.00 **Gabrielli, L.,** Fulleron, D., Montoya, M., Alvarez, M. y Sáez, C.G. (Programa de Cáncer, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile). **Acido retinoico aumenta la comunicación intercelular en células humanas de carcinoma epidermoide oral y mamario.**

16.15 **Klattenhoff, C.,** Burgos, P., de la Fuente, E., Rigotti, A., González, A. (Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile) **El Receptor de HDL (SR-BI) es segregado al polo basolateral por un mecanismo sensible a colesterol.**

14.30 -16.30

BIOQUIMICA VII **SALON LONQUIMAY**
Mesa: R. Lagos
R. Vicuña

14.30 **Baeza, M.,** Monasterio, O., Lagos, R.(Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Aislamiento y caracterización de mutantes en el gen de inmunidad a microcina E 492.**

14.45 **Corsini, G.,** Hetz, C.,Lagos, R.(Departamento de Biología Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Expresión de los genes asociados con la producción de la microcina E492.**

15.00 **Alcaíno, J.,** Allers, C., Barahona, S., León, R., Martínez, C., Quatrini, R., Sepúlveda, D., Valencia, A. y Cifuentes, V.(Laboratorio de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile).**Caracterización genético molecular de genes de carotenogénesis de *Xanthophyllomyces dendrorhous (Phaffia rhodozyma)*.**

15.15 **Polanco, R.,** Avila, M., Salas, L., Larrondo, L.F.,Vicuña, R., Tello, M., Tello, M.,Lobos, S.,Seelenfreund, D.(Departamento de Genética Molecular y Microbiología, P. Universidad Católica de Chile y Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Chile). **Efecto de Metales sobre la expresión de genes ligninolíticos en *Ceriporiopsi subvermispora***

15.30 **Larrondo, L.F.,** Stewart, P.,Cullen, D.,Lobos, S.y Vicuña, R. (Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, P. Universidad Católica de Chile).**Expresión heteróloga de manganeso peroxidasa de *Ceriporiopsis subvermispora* en *Aspergillus nidulans*.**

15.45 **Soto, X.,** Cabrejos, M.E., Morales, C., Tamayo, E. y Maldonado, E. (Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile).**Estudio de transcripción por RNA polimerasa II en *S.pombe*.**

16.00 **Palacios, J.L.,** Opazo, J., Martínez, P.(Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Evaluación del sistema de secreción tipo I de *Erwinia chrysanthemi* en *E. coli* utilizando quimeras génicas fusionadas a señal de secreción de proteasa B de *E.chysanthemi*.**

16.15 **Velásquez, J.C.,** Gutièrrez, A., Zurita, A., Gidekel, M.(Laboratorio de Bioquímica General, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Química y Farmacéuticas, Universidad de Chile). **Quitinasas, Glucanasas y Proteasas de*Trichoderma***

BIOTECNOLOGIA **SALON COÑARIPE**

Mesa: P. Valenzuela
B. González

14.30 Mannherz, O y **Aguayo, J.** (BiosChile I.G.S.A. y Fundación Ciencia para la Vida). **Desarrollo de un ELISA-PCR para la detección de *Piscirichettsia salmonis*.**

14.45 **Morales, A.,** Alvear, M., Borie, F., Crovetto, C.(Departamento de Ciencias Químicas, Facultad de Ingeniería Ciencias y Administración, Universidad de la Frontera). **Actividad fosfatásica y su relación con glomalina, una proteína estabilizadora de suelos.**

15.00 **Moya, P.,** Ramos, M., (Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile). **Detección de cobre y mercurio por biosensores bioluminiscentes.**

15.15 **Vidal, R.,** Alarcón, M., Vidal, M., Aspé, E. y Urrutia, H., (Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). **Cuantificación por hibridación con sondas rRNA 16s de grupos tróficos metanogénicos sobre soportes inertes en reactores anaerobios.**

15.30 **Ganga, A.,** Yáñez, K., Villarroel, A., Cifuentes, V. y Martínez, C., (Laboratorio de Genética, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Caracterización molecular de cepas nativas de *Saccharomyces* de la región vitivinicola central.**

15.45 **Pérez, D.,** Manzano, M., González, B. (Unidad de Microbiología, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Expresión de Módulos Génicos tfdCIDIEIFI y tfdDIICIIEIIFII del catabolismo de cloroaromáticos en *Ralstonia eutropha* JMP134.**

16.00 **Castro, M.,** Valdivia, L., Kramer, K., Ortiz, S., Benavides, J. y Castillo, A.(Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile y Departamento de Bioquímica, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, España). **Transfección de *Botrytis cinerea* con un RNA hipoviral**

16.15 **Ferrer, P.,** Miquel, A., Müller, I.y Valenzuela, P.(BiosChile IGSA y Fundación Ciencia para la Vida). **Inmunización genética de salmonídeos.**

16.30-17.00 CAFE **SALON CONGUILLIO**

17.00-19.00 **COMUNICACIONES LIBRES**

BIOLOGIA CELULAR VII **SALON ARAUCANIA**

Mesa: J. Garrido
T. Nuñez

17.00 **Amigo, L.,** Mendoza, H., Zanlungo, S., Vio, C.P. y Nervi, F. (Departamento de Gastroenterología y de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile). **Sobreexpresión de "Sterol carrier protein-2" por adenovirus en el hígado, incrementa la secreción de lípidos biliares y altera el perfil lipoproteico plasmático.**

17.55 **Leisewitz, A.,** y Roth A. (Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Diferenciación glial activada por receptores de ácidos grasos: PPARs.**

17.30 **Nualart, F.,** Vera, J.C. Rivas, C.I. (Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). **Un efecto "bystander" para la adquisición y reciclaje de vitamina C en células humanas.**

17.45 **Court, F.** (Unidad de Neurobiología Molecular, Facultad de Ciencias Biológica, P, Universidad Católica de Chile). **La regeneración axonal en ratones Wlds es normalizada por Actinomicina D.**

18.00 **Arredondo, M.,** Muñoz, P., Nuñez, M.T. (Laboratorio de Membranas Biológicas, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Captación y transporte de hierro en células que sobrexpresan la proteína HFE.**

18.15 **De la Fuente, M.**, y Sepúlveda, C. (Programa de Fisiología y Biofísica, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Un mecanismo intrínseco de agregación de gránulos cromafines**

18.30 **Olguín, H.**, (Unidad de Neurobiología Molecular, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Biológica, P. Universidad Católica de Chile). **Expresión diferencial de proteoglicanes durante la miogénesis temprana en extremidades de ratón**

18.45 **Hermoso, M.** (Departamento de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). **Expresión diferencial de CLC-3 en el tracto gastrointestinal de cobayo.**

BIOQUIMICA VIII **SALON LONQUIMAY**

Mesa: M.A. Valenzuela
J.C. Slebe

17.00 **González, D.,** Vega, R., Cardemil, E.(Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile). **Estudio experimental y modelamiento molecular de la interacción de análogos de ATP con la carboxiquinasa fosfoenolpirúvica de levadura.**

17.15 **Araya, M.,** Saavedra, C., Loyola, C. y Vásquez, C. (Laboratorio de Microbiología, Universidad de Santiago de Chile). **Caracterización bioquímica de la cisteína sintetasa de *Bacillus stearothermophilus V.***

17.30 **Espinoza, V.**, Kettlum, A.M., Zanocco, A. y Valenzuela, M.A. (Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Química Orgánica y Fisicoquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmaceúticas ,Universidad de Chile). **Estudios comparativos de emisión de fluorescencia de dos isoapirasas de *S. tuberosum.***

17.45 **Ludwing, H.**, Yañez, A.J., Pinto, R., Cárcamo, J.G., Reyes, A.R., Slebe, J.C.(Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile). **Estudios de desnaturación de mutantes de frucosa-1,6-bisfosfatasa que contienen residuos triptófano.**

18.00 **López, V.**, Cerpa, J., Herrera, P., Uribe, E.,Alcota, J., Baeza, R., Fuentes, E.,Fuentes, M. (Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Bioógicas, Universidad de Concepción). **Un mecanismo catalítico para la agmatinasa.**

18.15 **Celedón, G.**, Fuentes, M., Lissi, E. (Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile). **Modificación a las globinas promovida por diferentes fuentes de radicales libres. Rol del grupo hemo.**

18.30 **De Ioannes, P.**, Sapag., A., Lambert, C., Depiereux, E., Wouters, Eyzaguirre, J. (P. Universidad Católica de Chile, Universidad de Chile, URBM, FUNDP, Namur, Bélgica). **Clasificacón de las endoxilanasas de la familia 11 (o G) basada en análisis de secuencias aminoacidicas.**

18.45 **García, L.** Acuña, G., Acevedo, C., Bravo, I, y Valenzuela, M.A. (Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). **Análisis de nucleotidos y sus metabolitos por electroforesis capilar.**

NEUROBIOLOGIA **SALON COÑARIPE**

Mesa: H. Lara
J.Segura-Aguilar

17.00 **Greiner, M.,** Parra, C., Cárdenas, S., Paredes, A., Lara, H.E., Fiedler, J.L (Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). **Variación en los niveles de BCL-XL y BAX en hipocampo de rata inducida por adrenalectomía.**

17.15 **Rodríguez, E.,** Blazquez, J.L., Guerra, M., Peruzzo, B., Pastor, P., Amat, P. (Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile). **Obtención de un marcador específico para los tanicitos del hipotálamo que permite detectar cambios funcionales de los mismos.**

17.30 **Alcayaga, J.,** Reyes, P., Arroyo, J. (Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). **Efecto de la acidificación sobre la descarga de las neuronas del ganglio petroso.**

17.45 **Mosqueira, M.,** Villanueva, S., y Iturriaga, R. (Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Modulación inhibitoria de la respuesta quimiosensorial carotídea a la hipoxia por óxido nítrico.**

18.00 **Dagnino-Subiabre, A.,** Arriagada, C., Caviedes, P., Armero, J.M. y Segura-Aguilar, J.(Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Instituto de Ciencias Biomédica, Universidad de Chile). **Toxicidad de aminocromo en neuronas de la substancia nigra de rata adulta.**

18.15 **Carrasco, M.A.,** Vásquez, O. (Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). **Sobre-expresión de GLUT-1 en epéndimo normal de ratón durante el desarrollo post-natal. Análisis Inmunocitoquímico y por RT-PCR in vitro**

18.30 **Morgan, C.,** Fernández, H. (Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). **Formas moleculares de acetilcolinesterasa en cultivo primario de hipocampo de rata.**

18.45 **Tapia, J.C.,** Nualart, F., Navarrete, R., Mentis, G., Aguayo, L.G. (Laboratorio de Neurofisiología, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). **Glicina modula el crecimiento de neuronas espinales de ratón durante el desarrollo in vitro.**

19.00 -20.00 **SALON PUYEHUE**

SESION PANELES III
Coordinadores: E. Campos - X. Jordana

Neurobiología - Panel 94 al 108
Fisiología - Panel 109 al 125
Biología Molecular - Panel 126 al 135

20.00 -21.00 **SALON PLENARIO**

CONFERENCIA
PREMIO BIOSCHILE-SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE
Presenta: M. Imschenetzky

Montecino, M. (Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). **Estructura cromatínica y regulación transcripcional.**

21.00 - 22.30 **CENA-FIESTA DE CLAUSURA**

CONFERENCIAS PLENARIAS

CONFERENCIA OSVALDO CORI M.

NOVEL TRANSLATIONAL COMPONENTS IN ARCHAEA. Dieter Söll. Department of Molecular Biophysics and Biochemistry, Yale University, New Haven, CT 06520-8114, USA.

The accurate synthesis of aminoacyl-tRNAs is essential for faithful translation of the genetic code and is assumed to be one of the most orthologous processes in biology. This dogmatic view was called into question by the sequencing of a number of archaeal and bacterial genomes which did not contain genes encoding a significant number of aminoacyl-tRNA synthetases. For example, the genomic sequences of the euryarchaeotes Methanococcus jannaschii and Methanobacterium thermoautotrophicum do not contain open reading frames encoding homologs of the canonical asparaginyl-(AsnRS), cysteinyl-(CysRS), glutaminyl-(GlnRS) and lysyl-tRNA synthetases (LysRS). The use of two-step (indirect) aminoacylation pathways for the formation of Asn-tRNAAsn and Gln-tRNAGln in some organisms circumvents the need for the enzymes which catalyze one step formation of these molecules, AsnRS and GlnRS. It has now been found that several archaea and bacteria contain a functional class I LysRS with no resemblance to canonical class II LysRSs, with the bacterial examples apparently arising by horizontal gene transfer from archaea. Thus, non-orthologous replacement of essential enzymes such as AsnRS, GlnRS and LysRS is widespread in both Archaea and Bacteria, indicating that while the process of translation is orthologous its constituents are not. This surprising conclusion is supported by the finding that the closely related bacteria Deinococcus radiodurans and Thermus thermophilus, rather than lacking certain aminoacyl-tRNA synthetases, are able to synthesize Asn-tRNAAsn and Gln-tRNAGln using both the aminoacylation and transamidation pathways. Conferencia PABMB.

ESTRUCTURA CROMATINICA Y REGULACION TRANSCRIPCIONAL (Chromatin Structure and Transcriptional Regulation) Montecino, M. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción

La expresión de la información genética en células eucariontes ocurre como producto de la interrelación entre la actividad de factores regulatorios y la organización del ADN como cromatina. Se ha demostrado que la presencia de nucleosomas, la unidad estructural fundamental de esta cromatina, impide el acceso de factores de transcripción hacia sus secuencias de unión específicas. Más aún, que la activación transcripcional se acompaña de modificaciones en el posicionamiento y estructura nucleosomal en la región promotora de genes. Recientemente se han descrito complejos proteicos capaces de promover eventos de remodelación nucleosomal, alterando la estructura cromatínica y facilitando el acceso de factores de transcripción hacia sus secuencias promotoras. Sin embargo, se desconoce el mecanismo que permite a estos complejos detectar específicamente qué nucleosoma modificar entre otros que no son alterados. Una posibilidad es que existan factores transcripcionales tejido-específicos con la capacidad de reconocer sus secuencias de unión aún cuandoéstas se encuentren empaquetadas como nucleosomas. De esta manera "marcarían" aquellos nucleosomas a ser modificados posteriormente. En esta presentación, se analizarán aspectos moleculares que regulan la remodelación nucleosomal asociada a la actividad transcripcional del gen osteocalcina en células osteoblásticas. Se pondrá especial énfasis en el rol de factores del tipo CBF/AML/PEBP sobre la expresión tejido-específica de osteocalcina y en la iniciación de los eventos de remodelación nucleosomal que la acompañan.
FONDECYT 1971077, DIUC 96.031.071-1.ID, NIH-FIRCA TW00990

CELL-EXTRACELLULAR MATRIX INTERACTIONS IN THE DEVELOPING PERIPHERAL NERVOUS SYSTEM. David J. Carey, Weis Center for Research, Penn State College of Medicine, Danville, PA 17822-2613.

Schwann cells are the myelin forming cells of the peripheral nervous system. Schwann cells also synthesize an extensive extracellular matrix (ECM). Interactions of neurons and Schwann cells with this ECM play important functions in peripheral nerve development. The structure and biochemical composition of the Schwann cell ECM is altered during development. During the period of myelin formation Schwann cells assemble a laminin-rich basal lamina. Schwann cell contact with this ECM is required for myelination. Interestingly, assembly of basal lamina by Schwann cells is dependent on contact with axons. Thus, neuron-dependent basal lamina assembly might provide a signal for Schwann cells to initiate myelination. During the pre-myelinating stages of nerve development the undifferentiated Schwann cells synthesize a fibrillar ECM that contains fibronectin and several collagen types. One of the Schwann cell collagens is an unusual member of the collagen type V gene family. The Schwann cell collagen type V contains a novel peripheral nerve-specific subunit, which was recently cloned in our laboratory. This collagen subunit, which was originally isolated on the basis of its high affinity binding to heparan sulfate proteoglycans, is expressed exclusively in the developing peripheral nervous system. The purified Schwann cell collagen type V promotes Schwann cell adhesion and migration but strongly inhibits outgrowth of dorsal root ganglion axons. In co-cultures of Schwann cells and neurons this collagen promotes fasciculation of axons and their association with Schwann cells. Together, these findings suggest an important role for this collagen in regulating outgrowth of developing peripheral nerves.
Supported by NIH grant RO1 NS21925.

THE HERMANN NIEMEYER LECTURE

NEW FUNCTIONS FOR AN OLD ENZYME Hermona Soreq, Dept. Biological Chemistry, Institute of Life Sciences, The Hebrew University of Jerusalem, Israel 91904

Apart from its catalytic function in hydrolysing acetylcholine, acetylcholinesterase (AChE) affects cell proliferation, differentiation and responses to various stress insults. These functions are at least in part specified by the three C-terminal AChE variants, produced by alternative splicing of the single ACHE gene. **"Synaptic" AChE-S multimers** constitute the principal enzyme of brain and muscle. AChE-S causes process extension from cultured amphibian and mammalian neurons and glia in a manner that is C-terminus dependent, refractory to engineered inactivation of catalytic ability and, in certain cases, redundant to the neurogenic function of AChE-like proteins such as neuroligin. **Soluble, monomeric "readthrough" AChE-R** appears in embryonic and tumor cells and is induced under psychological, toxic and physical stress. AChE-R and its C-terminal peptide further exert proliferative and differentiation effects on mammalian hematopoietic stem cells. Finally, **glypiated dimers of erythrocytic AChE-E** associate with red blood cell membranes, where their as yet unexplained function is most likely structural and not catalytic. We postulate that the developmental functions of AChE variants reflect their homology to cell adhesion proteins such as gliotactin, glutactin, neuroligin and neurotactin. Competition between an AChE variant and a homolog for interaction with the homolog's binding partner (e.g. a neurexin) would inevitably modify the cell signalling exerted through the cytoplasmic domains of either the AChE homolog or its partner. Thus, AChE excess in amyloid plaques in the degenerating human brain and the progressive cognitive and neuromotor deficiencies observed in AChE-transgenic mice most likely reflect the combined contributions of catalytic and structural roles of AChE.

SEXUAL SELECTION, EXTINCTION, SPECIATION AND CONSERVATION. Müller, A. P. Laboratoire d'Ecologie, CNRS UMR 7625, Université Pierre et Marie Curie, Bât. A, 7ème étage, 7 quai St. Bernard, Case 237, F-75252 Paris Cedex 5, France

Sexual selection arises from non-random variation in mating success, and this process can give rise to the evolution of extravagant characters that are costly to produce or maintain. Such sex-related costs of sexual selection cause sex differences in mortality and hence may increase the risk of extinction of small populations. This is supported by (1) sexually selected species having low introduction success on islands, and (2) sexually selected species experiencing elevated risks of going extinct. A similar trend can be seen in the fossil record where lineages often increase in body size, apparently because of sexual selection, and large-sized taxa run an elevated risk of going extinct (Cope's rule). Demographic stochasticity may play a crucial role in these phenomena by increasing the risk of extinction due to random events, in particular in species with monogamous mating systems or with strong mate preferences. If sexual selection only increased the risk of extinction, we should expect species with extravagant sexual characters to be rare. However, the rate of speciation is increased by sexual selection, causing a balance with extinction. These findings have important implications for conservation.

CONFERENCIA SOC. DE FARMACOLOGIA DE CHILE

NEW CONCEPTS TO EXPLAIN NEW AND OLD EXPERIMENTS ON DRUG-RECEPTOR INTERACTION. THE STIMULUS-EFFECT RELATIONSHIP REVISITED. Jurkiewicz, A. Departamento de Farmacologia da EPM-UNIFESP, Sao Paulo, Brasil.

In smooth muscle, drug molecules diffuse through the tissues, interacting with receptors, forming the drug-receptor complex. This complex releases a cascade of compounds, inducing an effect. It is now clear that other factors besides drug diffusion are responsible for the spreading of the phenomena initiated when drug molecules are introduced. One of such factors is the presence of gap-junctions. These junctions are pathways for electrical signalling and for small molecules of second messengers, generated by the drug-receptor complex. To illustrate the role of gap junctions, experiments will be shown in which heptanol was used as a blocker, in visceral smooth muscle. Another factor, observed in the case of paired organs, is the modulation of the effect of an organ by its contralateral counterpart. In this case, the signalling mechanism between organs remains unknown. To illustrate this phenomenon, experiments will be described in the contralateral vas deferens after vasectomy. Another factor is represented by changes on second messengers mobilization after chronic interference on its translocation. As an example, we shall describe changes occurring on calcium channels, after chronic treatment «in vivo» with calcium blockers. In the last group of experiments, it will be shown that the relationship between intracellular calcium and contraction assumes different forms, depending on experimental conditions. It is concluded that the stimulus-effect relation ship can be represented by a complex plastic structure, with interrelated parallel phenomena, leading to the final-induced effect.

ESTEROIDES Y NEUROESTEROIDES. ACCIONES E INTERACCIONES EN EL SISTEMA NERVIOSO (Steroids and neurosteroids. Actions and interactions in the nervous system). J. Belmar. Laboratorio de Farmacología-Bioquímica, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Catalica de Chile.

El sistema nervioso (SN) es el órgano de la información, tarea compleja que descansa en procesos y mecanismos, bioquímicos y biofísicos, relacionados con la comunicación entre neuronas. Ellos son influenciados por señales endógenas entre las que se investigan, con interés creciente, las moléculas esteroidales. Esteroides de diferente origen y algunos de sus metabolitos actuarían como moduladores endógenos de la función neuronal. En esta categoría también se reconocen ahora, esteroides producidos en el propio tejido nervioso a partir del colesterol, los neuroesteroides (NES).
En esta presentación se describen las acciones de esteroides y de NES sobre la neurotransmisión química en diversas regiones del SN (corteza cerebral, hipotálamo, cuerpo estriado) de animales en condiciones endocrinas relacionadas con la función reproductiva y/o con el estrés. En diversos sistemas de neurotransmisores (noradrenérgico, dopaminérgico, glutamatérgico, gabaérgico, peptidérgico) se demuestra el efecto modulador de esas moléculas y de algunos de sus metabolitos, así como el efecto rápido de los neuroesteroides (no-genómicos) sobre procesos y mecanismos pre y postsinápticos. Los esteroides, a través de mecanismos genómicos y no-genómicos modifican la síntesis, almacenamiento y liberación de neurotransmisores, la excitabilidad neuronal y el número y funcionalidad de receptores químicos. Los esteroides pueden entonces influir en variadas conductas y, posiblemente también, en el desencadenamiento de algunas patologías.
Proyecto FONDECYT 8970010.

ALEXANDER von HUMBOLDT Y SU VIAJE A AMERICA (1799-1804). (Alexander von Humboldt and his Travels in America (1799-1804). David Yudilevich .Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. E-mail: dyudilevich@entelchile.net

Estamos conmemorando el bicentenario del monumental viaje (1799-1804) de Alexander von Humboldt, (1769-1859). El sabio prusiano viajó con Aimé Bonpland, médico y botánico francés, con el patrocinio del Rey de España, Carlos IV.. Desembarcaron en Cumaná (Venezuela) y exploraron sucesivamente: 1) Cumaná, Caracas, río Orinoco y el Casiquiare (conección con el Amazonas). 2) Embarcaron a La Habana desde Cumaná. 3) Embarcaron hasta Cartagena y navegaron el río Magdalena, explorando Nueva Granada (Colombia). 4) Ecuador: Quito y escalaron el Chimborazo. 5) Perú: por el "camino del inca", Cajamarca , Trujillo, Lima. 6) Embar:caron hasta Guayaquil. 7)Navegaron hasta Acapulco y exploraron México. 8) Desde Veracruz a Cuba. 9) Regresaron a Europa vía Filadelfia.
Humboldt se estableció en París, por 23 años y publicó 30 volúmenes, ricamente ilustrados: "Voyage aux régions équinoxiales du Nouveau Continent, fait en 1799-1804". Estos imcluían fllora, fauna, geología, arqueología, antropología, astronomía, etc. "Cuadros de la naturaleza" (3° edición 1849) y "Cosmos" (1850-1860) culminaron su obra. Revisaremos algunas de sus múltiples e importantes contribuciones.
Su excepcional conocimiento e interés, mantuvo a Humboldt en contacto con intelectuales, políticos, científicos y artistas, del viejo y nuevo continente. Muchos vinieron a nuestros países, por ejemplo a Chile: Claudio Gay, Ignacio Domeyko, Rodulfo Philippi. Mauricio Rugendas. En el célebre viaje de Charles Darwin, fue de máxima importancia Humboldt, a través de sus obras, que acompañaron y ayudaron, al insigne naturalista inglés durante los cinco años del periplo en H.M.S. Beagle.
Humboldt recibió los mayores honores de innumerables sociedades científicas. Una capa de olvido ha cubierto este brillante pasado. Sin embargo, la vigencia y valor reactualizado de sus aportes ha sido evidenciado en el reciente Simposio 'Humboldt en América' (ver http://www.humboldt200.cl).

CONFERENCIA LUIS IZQUIERDO FERNANDEZ

LA INVENCION DE LA CELULA. Juan D. Vial. P. Universidad Católica de Chile.

Durante la primera mitad del siglo XIX varios biólogos alemanes trataron de formular una «Teoría de los Organismos» que explicara su organización finalista evitando las interpretaciones propias del idealismo. El fracaso de la noción de «fuerza vital» llevó a Theodor Schwann a proponer que la generación de un organismo hubiera de explicarse sólo por las fuerzas propias de la materia. Propuso que en el curso del desarrollo la materia viviente amorfa sufría un proceso análogo a la cristalización y se organizaba en pequeñas vesículas, las «células» que luego se diferenciaban para dar las partes elementales de los tejidos.
Pocos años más tarde se propuso que las células tomaban origen unas de otras, sin que se interpusiera una etapa de materia viviente no organizada. Esta nueva forma de concebirlas llevaba a que se les tuviera que aplicar a las células las mismas nociones idealistas que se había pretendido descartar para los organismos.
En ambientes influídos por el positivismo, especialmente en Inglaterra, se pensó que la célula era demasiado compleja para ser considerada como la «unidad vital», y se centró la atención sobre el contenido, especialmente sobre los acúmulos moleculares - gránulos- a los que se les atribuyó la capacidad de multiplicación por fisión descubierta en los cromosomas.
Muchos años después, la aplicación de los conceptos de la evolución orgánica y de la físico-química de sistemas complejos, permitieron darle a la estructura celular una interpretación coordinada con el conjunto de la Biología y desvinculada de los sistemas filosóficos que habían presidido el origen de su estudio.

CONFERENCIA PABMB

MODULACION DE LA AFINIDAD DE LAS TIORREDOXINAS POR LAS PROTEINAS SUSTRATO. (Modulation of thioredoxin affinity for target proteins). Wolosiuk, R.A., Duek, P.D. y Mora-García, S. Fundación Campomar, Antonio Machado 151, 1405 Buenos Aires, Argentina.

La luz no solo provee la energía para la asimilación fotosintética de CO2 sino también regula la actividad específica de enzimas claves del ciclo de Benson-Calvin. En los cloroplastos iluminados, la acción concertada de la ferredoxina y la ferredoxina-tiorredoxina reductasa convierte la única cistina de la tiorreodoxina (Trx) a grupos sulfhidrilos y estos a su vez reducen los puentes disulfuro de las proteínas. Dado que todas las Trx tienen afinidades variables por las proteínas sustrato pero mantienen similar estructura terciaria e idéntica secuencia aminoacídica en el sitio activo, analizamos si las interacciones no-covalentes contribuyen a la aproximación del tiolato nucleofílico al puente disulfuro. Para este fin, utilizamos Trx ineficaces en la estimulación de la fructosa-1,6-bisfosfatasa de los cloroplastos (CFBPasa) porque el mejoramiento de esta función permite establecer los factores implicados en la activación reductiva. Los azúcares bisfosfato y metales bivalentes producen una nueva forma de CFBPasa y simultáneamente potencian la acción de las Trx. Por otra parte, la sustitución de los aminoácidos neutros o cargados negativamente en la posición 30 de la Trx con residuos cargados positivamente aumenta la capacidad de las mutantes para activar a la CFBPasa. Estos resultados indican que las interacciones intra- e inter-moleculares modulan la formación del complejo binario no-covalente que precede a la transformación covalente de las cist(e)inas en el intercambio tiol/disulfuro. Como corolario, este mecanismo para la regulación del proceso reductivo participaría en el funcionamiento de la superfamilia de las protein-disulfuro óxido-reductasas. Estos estudios fueron subvencionados por la UBA, el CONICET y el FONCYT (Argentina).

SIMPOSIOS

SIMPOSIO I

PROTEOGLICANES: PARTICIPACION EN LA SEÑALIZACION VIA FACTORES DE CRECIMIENTO Y SU INTERACCION CON EL CITOESQUELETO, DURANTE EL DESARROLLO Y MALIGNIDAD

Coordinador: Dr. Enrique Brandan

EXPRESSION AND FUNCTION OF PROTEOGLYCANS DURING MYOGENESIS E. Brandan. Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Catholic University of Chile, Santiago, Chile.

Proteoglycans (PGs) are essential components of cell surface that are found either associated with the plasma membrane and the extracellular matrix (ECM). One of the possible functions for PGs during skeletal muscle differentiation, is modulation of myogenesis by organizing an ECM and/or by presentation and/or sequestration of growth factors to their transducing receptors. Several growth factors like basic fibroblast growth factor (FGF-2), transforming growth factor type β (TGF-β), and hepatocyte growth factor (HGF), are strong inhibitors of skeletal muscle differentiation and have the ability to specifically bind PGs. The expression of several PGs varies during myogenesis. Three members of the heparan sulfate PGs, syndecan-1, -3, and perlecan are down-regulated during differentiation whereas glypican and decorin, a chondroitin/dermatan sulfate PG, are up-regulated. The function of these PGs during myogenesis have been evaluated by abolishing or maintaining a constitutive expression, evaluating their effect on expression of early (myogenin) and late markers (creatine kinase, myosin) of muscle differentiation. Syndecan-1 and -3 seems to regulate the presentation of FGF-2 to their transducing receptor and glypican seems to act as a sequester of FGF-2. Decorin appears to be involved in the repression of myogenin in myoblasts.
These results suggest that the regulated expression of PGs in myoblasts modulate the activity of growth factors and therefore the process of terminal skeletal muscle differentiation.
FONDECYT 1990151, Howard Hughes Medical Institute, and Presidential Chair in Sciences.

SYNDECANS: TRANSMEMBRANE LINKERS BETWEEN THE EXTRACELLULAR MATRIX AND THE CYTO-SKELETON. David J. Carey, Weis Center for Research, Penn State College of Medicine, Danville, PA 17822-2613.

Syndecans are a family of transmembrane heparan sulfate proteoglycans. Four syndecan isoforms, which are the products of separate genes, are expressed in mammalian cells in cell type and development-specific patterns. A number of extracellular ligands bind to syndecans via their covalently attached heparan sulfate chains. These ligands include adhesive proteins of the extracellular matrix, cell-cell adhesion proteins and growth factors. Syndecan core proteins contain conserved COOH-terminal cytoplasmic domains of approximately 30 amino acids. Over-expression or ectopic expression of syndecans produces alterations in adhesion and spreading of cells on matrix-coated dishes and reorganization of the actin cytoskeleton. Syndecan-1 co-localizes with nascent actin filaments during cell spreading. Syndecan-1/actin filament co-localization can also be induced by antibody-mediated clustering of the proteoglycan on the cell surface. Actin filament co-localization is abolished by deletion of a specific region of the syndecan-1 cytoplasmic domain. Cells transfected with syndecan-1 or syndecan-3 exhibit strikingly different morphologies. Syndecan-1 and syndecan-3 are localized to different subcellular structures. Syndecan-3 is localized to cell surface filopodia and its expression promotes the formation of thin actin-containing processes. The ectodomain of syndecan-3 is spontaneously released from the surface of some cells. Syndecan-3 release is blocked by specific inhibitors of matrix metalloproteinase activity. Syntenin is a PDZ domain protein that binds to the cytoplasmic tails of syndecans. Syntenin co-localizes with syndecan-3 in filopodia. Syntenin overexpression induces actin filament reorganization and changes in cell morphology and adhesion. Together, these findings demonstrate a key role for syndecans in modulation of cell adhesion and cytoskeletal organization.
Supported by NIH grant RO1 NS21925.

THE ROLE OF SYNDECANS ON CELL MIGRATION. Senén Vilaró; Francesc Granes; Hector Contreras; Christine Bernt and Manuel Reina. Department of Cellular Biology University of Barcelona Avda. Diagonal, 645 08028-Barcelona; e-mail: senen@porthos.bio.ub.es

There is growing evidence that the interaction between plasma membrane proteins and the actin cytoskeleton is important for signal transduction and the regulation of cell growth and differentiation. Cell surface heparan sulphate proteoglycans (HSPGs), which have a broad capacity for binding extracellular molecules, such as growth factors, degradative and lipolytic enzymes, protease inhibitors, extracellular matrix proteins, etc. and participate in molecular events that regulate cell adhesion, migration and proliferation, also interact with the actin cytoskeleton. Evidences obtained in our laboratory have showed that the binding of soluble ligands to the HS chains induces the cell surface aggregation of HSPGs over the actin cytoskeleton and that the ligand-HSPG complexes are periodically distributed along the cortical actin filaments. The highly organised spatial relationship between actin and HSPGs suggests that cortical actin filaments could organise the molecular machinery involved in signal transduction and molecular movements on the cell surface that are triggered by heparin-binding proteins. During the last few years, we have obtained evidences about: i) the cytoplasmic molecules which bridge syndecan-2 (a member of the syndecan family of cell surface HSPGs) to the actin cytoskeleton; ii) the molecular and signalling mechanisms that regulate the interaction between syndecan-2 and the actin cytoskeleton; iii) the intracellular signalling pathways that are activated by this member of the syndecan family of proteoglycans; iv) the role of the syndecan-2 in cell proliferation, migration and malignity. Taken together the results show that syndecans regulate the organisation of the actin cytoskeleton during cell migration and differentiation, and provide a link between the cell surface HSPGs, signal transduction pathways and malignant cells.

INFLUENCE ON SIGNAL TRANSDUCTION IN EA.HY 926 ENDOTHELIAL CELLS BY VIRUS-MEDIATED DECORIN EXPRESSION. E. Schönherr1, B. Levkau2, L. Schaefer[2], B.C. O'Connell[3] and H. Kresse[1] [1]Institute of Physiological Chemistry and Pathobiochemistry and [2]Center of Internal Medicine, University of Münster, Münster, Germany; [3]National Institute of Dental and Craniofacial Research, National Institutes of Health, Bethesda, MD. USA

Based on the observation of an induction of decorin in sprouting endothelial cells and during in vivo angiogenesis, human EA.hy 926 endothelial cells were studied in floating collagen lattices. When the lattices were populated additionally by 10 % rat fibroblasts, EA.hy 926 cells started to express decorin and formed cords and tubes. In the absence of fibroblasts, cord-like structures were not formed, decorin was not induced, and the extent of apoptosis rose by about 40%. When EA.hy 926 cells were virally transduced with human decorin cDNA, there was no requirement of fibroblasts for the formation of capillary-like structures, and apoptosis was as in co-cultures. Employing an adenovirus which harbored the cDNA of mutant decorin interacting only weakly with type I collagen fibrils, yielded similar results.
The expression of matrix metalloproteinases is an essential step in the formation of capillaries. In the presence of fibroblasts as well as after infection with decorin adenovirus an induction of MMP-1, MMP-2, MMP-9 and MMP-14 was found, whereas the levels of MMP-3, TIMP-1 and TIMP-2 remained unchanged.
Decorin expression was followed by an up-regulation of $p21^{Cip1/Waf1}$ and $p27^{Kip1}$, inhibitors of cyclin-dependent kinases. The majority of p21 was proteolytically converted to inactive fragments which were transported from the nucleus into the cytosol. Analogous data were obtained with p27. An up-regulation was also observed for several components of the NF6B/I6B complex. Thus, in EA.hy 926 cells decorin expression is linked with major changes in the expression and processing of several proteins being involved in cell proliferation, differentiation and apoptosis.
This work was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 293, Project A7 and SFB 310, Project B2)

A NOVEL BMP-BINDING MODULE: FROM CHORDIN TO PROCOLLAGENS. Juan Larraín*, Daniel Bachiller, Bin Lu, Eric Agius and E. M. De Robertis. Howard Hughes Medical Institute and Department of Biological Chemistry, University of California, Los Angeles, CA 90095-1662.

Chordin is a BMP antagonist that has been implicated by a number of genetic and molecular studies in the regulation of dorsoventral patterning during gastrulation. Chordin is a secreted protein of 120 kDa containing four small (about 70 amino acids each) cysteine-rich domains (CRs) of unknown function. In this study we show that the Chordin CRs define a novel protein module for the binding and regulation of BMPs. The biological activity of Chordin resides in the CRs, especially in CR1 and CR3, which have dorsalizing activity in Xenopus embryo assays and bind BMP-4 with dissociation constants in the nanomolar range. The activity of individual CRs, however, is 5-10 fold lower than that of full-length Chordin. These results shed light on the molecular mechanism by which Chordin/BMP complexes are regulated by the metalloprotease Xolloid, which cleaves in the vicinity of CR1 and CR3 and would release CR/BMP complexes with lower anti-BMP activity than intact Chordin. These CR domains are found in other extracellular proteins such as fibrillar procollagens, thrombospondin and von Willebrand factor. We have demonstrated that the CR domains present in Xenopus procollagen IIA can bind BMP4 and that microinjection of the synthetic mRNA for this fibrillar procollagen has dorsalizing activity in embryo assays. These results suggest that CR modules may function in a number of extracellular proteins to regulate growth factor signaling.
*J.L. was supported by a PEW Fellowship

SIMPOSIO II

ECOLOGIA EVOLUTIVA DE LAS INTERACCIONES BIOLOGICAS

Coordinador: Dr. Mario George-Nascimento

THE GEOGRAPHY OF SYMBIOSIS. Hochberg, M.E. Structure et Fonctionnement des Systèmes Ecologiques, Université Paris VI, Bâtiment A - CC237, 7 quai St. Bernard, F-75252 Paris 05, France

I present results of a theoretical model of obligate symbiosis in which the effect of a clonal symbiont on its host can evolve. In the model, a given clone exhibits a single 'strategy', and this strategy can range from being highly pathogenic to being highly beneficial to its host. When there is no cost to the effect, surprisingly, symbionts always evolve to be beneficial to their hosts. When, on the other hand, a cost is imposed in terms of the competitive ability of symbionts in hosts infected with more than one symbiont clone, then the productivity of the host determines the evolutionary trajectory of the symbiont. Specifically, more beneficial symbionts evolve in marginal or sink environments for the host, whereas the most pathogenic symbionts prevail in productive environments. I discuss how the results compare to empirical studies, and make predictions of how host-parasite associations should evolve across geographical ranges.

PARASITISM AND HOST SOCIALITY. Müller, A. P. Laboratoire d'Ecologie, CNRS UMR 7625, Université Pierre et Marie Curie, Bât. A, 7ème étage, 7 quai St. Bernard, Case 237, F-75252 Paris Cedex 5, France

Sociality has evolved independently numerous times despite several severe costs. Since multiple parasite infections are common in social organisms, sociality selects for increased parasite virulence. Hence, social hosts have been selected to invest heavily in anti-parasite defenses. A comparative study of pairs of closely related species of solitary and colonial birds revealed increased investment in immune function in social species. A comparative study of the family Hirundinidae, that vary dramatically in degree of coloniality, was used to test for the relationship between sociality, cost of parasitism and anti-parasite defense. The cost of parasitism measured as reduction in reproductive success due to parasitism increased exponentially with colony size. Estimates of cell-mediated and humoral immunity increased with the impact of parasites on hosts and with colony size across species. Since nestlings trade development of the immune system against development of feathers and the skeleton, large investment in immune function during early development is made at the sacrifice of early independence. Hence, exploitation by parasites has caused increased investment in anti-parasite defense that actually increases exposure to parasites. This apparently maladaptive response can be considered a "tragic of the commons", since the optimal level of defense in not the one that minimizes the impact by parasites.

ECOLOGIA EVOLUTIVA DE LAS DECISIONES CONDUCTUALES EN AMBIENTES HETEROGENEOS: RIESGO DE DEPREDACION, USO DE LA INFORMACION Y SOCIABILIDAD (Evolutionary ecology of behavioural decisions in heterogeneous environments: predation risk, information use, and sociality). Vásquez, R.A. Departamento de Ciencias Ecológicas, Universidad de Chile, Santiago.

Evolutionary ecology envisions behavioral decisions as adaptive titrations between gains (e.g., energy intake) and losses/expenditures (e.g., predation risk, metabolic costs). Patch use theory deals with decisions related to the exploitation of heterogeneously distributed resources. Efficient foragers should be capable of equalizing marginal values across patches by assessing the marginal benefits and costs of patch exploitation. Studies have assessed the value of foraging by using a surrogate of quitting exploitation rate, the giving-up density (GUD), i.e., the amount of food remaining in a patch when abandoned by a forager. Patch use theory is also applied to estimate the use of environmental information. Since different patch assessment rules generate different patterns of exploitation (patch utilization and density-dependence), information use can be estimated experimentally. Both approaches assume that the gain function is the same independently of patch location, and that there is a perfect translation between GUDs and quitting exploitation rates. These assumptions where investigated in a natural population of the degu (*Octodon degus*), a diurnal caviomorph rodent from central Chile. Gain functions, GUDs, and quitting exploitation rates consistently differed between microhabitats, indicating a higher perceived risk of predation in open areas. Predation risk appears to increase GUDs and make gain functions shallower. Because different microhabitats generate different gain functions, similar GUDs between dissimilar sites do not translate into similar quitting exploitation rates. Information use experiments revealed that degus exploit patches in a positive density-dependent manner and tend to under-exploit richer patches, suggesting a Bayesian patch assessment strategy. Approaches incorporating the social dimension will also be discussed.
(FONDECYT 1990049)

PARASITE LIFE HISTORY TRAITS AND SPECIES COEXISTENCE. Guègan, J.F., C.E.P.M./U.M.R. C.N.R.S.-I.R.D. 9926, 911 avenue Agropolis, B.P. 5045, 34032 Montpellier Cedex 1, France.

Under natural conditions, hosts are generally cohabitated by different parasite species, and monospecific assemblages of parasites are rather rare. This does not mean that single-species assemblages cannot exist in hosts at all, but it simply describes the natural wormy world! In this sense, and to paraphrase Tokeshi, it is appropriate to say that parasite coexistence is the gist of life on hosts. Unfortunately, not many parasitological analyses have been conducted to examine how ecological and evolutionary processes which generate and maintain such species diversity are influenced, and interact with, various traits of the hosts and of the parasites themselves. For instance, differences in life history characteristics of parasites such as body size or the timing of reproduction may allow species in an assemblage to use resources differently and thereby facilitate their coexistence. Fortunately, monogenean ectoparasites which form guilds of phylogenetically-related species with up to 13 different species on gills of fish provide an interesting biological system to illustrate the range of possibilities through which various life-history characteristics can allow the coexistence of parasite species. The coexistence of these small-sized organisms poses some interesting questions in both evolutionary and ecological contexts. In this oral communication, I will examine some little-explored aspects of parasite life-history traits which might influence the mode and extent of parasite species coexistence in hosts. This issue is central in parasitology since it has a close bearing upon epidemiology.

EFFECTS OF THE RED FIRE ANT INVASION ON THE COMMUNITY STRUCTURE OF NORTH AMERICAN ANT FAUNAS. Gotelli, N.J. Department of Biology, University of Vermont, Burlington, Vermont 05405, U.S.A.

Non-native species offer a unique opportunity to study the ecological and evolutionary responses of a community to an invader. The red imported fire ant, Solenopsis invicta, was accidentally introduced from South America to North America over 60 years ago and has spread throughout the southeastern United States. We document the consequences of this invasion on a continental scale. We censused ground-foraging ant communities on a linear transect from Florida through New York that passed through invaded and intact biotas. Native ant species richness peaks at mid-latitudes in the eastern United States, and the location of this peak corresponds to the range limit of S. invicta. In uninvaded sites, ant species co-occur less often than expected by chance. In the presence of S. invicta, community structure converges to a random pattern. Three other non-native species occurred in this transect. Like S. invicta, their geographic occurrence was restricted to low-latitude sites. Our results suggest that species-rich, low-latitude sites may be most vulnerable to disruption from non-native invaders. There is little evidence that the native ant community has counter-evolved to the presence of S. invicta.
Supported by National Science Foundation grants DEB-9615708 and DEB-9615708
I thank A. Arnett and C. Royer for assistance in the field and the laboratory, and S. Cover for confirming species identifications.

SIMPOSIO III

LEPTINAS: FUNCION REPRODUCTIVA Y OBESIDAD SOCIEDAD DE FARMACOLOGIA DE CHILE

Coordinador: Dr. Hernán Lara

RELACION ENTRE HORMONAS REPRODUCTIVAS Y TEJIDO ADIPOSO (Interrelashionship between reproductive hormones and adipose tissue). Mahesh VB, Zamorano PL, Cannady WE, De Sevilla L, and Brann DW, Department of Physiology and Endocrinology, Medical College of Georgia, Augusta, Georgia, USA.

Leptin deficient mice have ovulatory failure. Estrogens have been known to regulate food intake and body weight. Ovariectomy increases food intake and body weight and the administration of estrogens reverses the process. During the rat ovulatory cycle, food intake is lowest around the time of ovulation when estrogen levels are the highest. The possible mechanism of the estrogen effect on food intake was investigated in this study. Administration of 5 µg of 17-ß-estradiol subcutaneously for 2 days to adult ovariectomized rats resulted in a significant elevation in leptin mRNA levels in adipose tissue. A single injection of estradiol significantly increased leptin mRNA levels in adipose tissue 6 and 12 hours after injection. That the increase in leptin mRNA resulted in the secretion of leptin was shown by an increase in serum leptin, 12 hours after estradiol injection. Thus, the anorectic effect of estrogens may be manifested through leptin secretion.
Ovarian tissue is surrounded by periovarian fat and periovarian fat contains more estrogen than ovarian tissue in the immature rat. Estrogen content of periovarian fat and aromatase activity was increased 72 hours after leptin administration. Thus, estrogen produced by the fat tissue may plan an important role in the onset of puberty by supplying the initial estrogen needed for folliculogenesis.

TERAPIA GENICA DE LEPTINA: ¿TRATAMIENTO TERAPEUTICO DE LA OBESIDAD?. (Gene therapy of leptin. A possible therapeutic treatment for obesity?. Zamorano PL. Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Leptina por sus características moleculares ha sido una atractivo modelo para el desarrollo y evaluación de vectores virales para terapia génica. Estudios iniciales en roedores usando vectores adenovirales de primera generación han demostrado ser muy eficientes en transducir hepatocitos *in vivo* y alcanzar niveles terapéuticos de leptina circulantes. Estos vectores sin embargo, adolecen de tener un corto periodo de expresión. Vectores adenovirales de tercera generación desprovistos de genes virales estructurales logran periodos de expresión más largos, debido a que no producen una reacción inmunológica exacerbada. Periodos extremadamente largos de expresión de leptina se han logrado usando vectores de virus adeno-asociado inyectados directamente en el músculo. Ratones obesos deficientes de leptina muestran un fenotipo normal hasta sesenta semanas después del tratamiento. Estudios recientes demuestran que reemplazo de leptina por terapia génica es más eficiente que administración diaria de leptina recombinante, por lo que el uso de estos vectores podría ser beneficioso para el tratamiento de la obesidad en humanos deficientes de leptina, y en pacientes obesos hipoleptinémicos. Una vez entendido el rol de leptina en la patofisiología de la obesidad de pacientes hiperleptinémicos se podrá evaluar si terapia génica de leptina podría ser de beneficio en estos pacientes.

LEPTINA Y SEÑALES METABOLICAS EN EL CONTROL DEL INICIO DE LA PUBERTAD. (Leptin and metabolic signals in the puberty onset). Recabarren, S.E.[1], Sir-Petermann, T.[2].Lobos, A.[1], Maliqueo, M.[2]. 1,Lab. Fisiología y Endocrinología Animal, Fac. Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción, Chillán.2, Lab. Endocrinología y Metabolismo, Fac. Medicina Occidente, Universidad de Chile, Santiago.

El inicio de la pubertad en la hembra, depende de un aumento en la frecuencia de pulsos de hormona luteinizante (LH). Por la estrecha relación entre la frecuencia de pulsos de LH y GnRH, la pubertad puede ser consecuencia del aumento en la frecuencia de liberación de GnRH. El aumento en la secreción de GnRH/LH depende del estado metabólico de la hembra en crecimiento. Se ha propuesto que señales metabólicas captadas por sensores centrales o periféricos, estimularían el marcapaso hipotalámico de secreción de GnRH. La **leptina** (producto del gen ob de roedores), podría ser una de las señales metabólicas que regularían el inicio de la pubertad no sólo en roedores sino que también en humanos y en otras especies. En la rata, aumenta la concentración plasmática de leptina durante el desarrollo prepuberal y la administración de leptina adelanta la pubertad. En niñas, también aumentan las concentraciones plasmáticas de leptina antes de la pubertad. Se ha propuesto además, que la reactivación del eje gonadal durante el puerperio constituye una "minipubertad", que permitiría estudiar el rol de la leptina en la reactivación del eje gonadal. Se comparará la participación de la leptina en la regulación de ambos procesos y entre especies.
Fondecyt 1970291 y Fondecyt 1990389

LEPTINA Y EFECTOS SOBRE LA FUNCION OVARICA. (Leptin and ovarian function). Lara[1] HE, Fiedler[1] JL, Bustamante[2] D, Paredes[1] A. Lab. Neurobioquímica, Dept. Bioq. Biol.. Molecular. Fac. Cs Químicas y Farmacéuticas y [2]Programa de Farmacología. Fac. Medicina. Universidad de Chile.

Leptina, una citokina de 16kDa producto del gen Ob de roedores, es producida principalmente en el tejido adiposo, circula en la sangre a concentraciones similares a las del tejido adiposo y controla la funcion reproductiva. Animales hiperleptinémicos presentan serias deficiencias en la función reproductiva. En los últimos años muchas evidencias apoyan que las señales metabólicas entregadas por leptina al sistema reproductivo pueden ser afectando directamente la función ovárica. Ratas ovariectomizadas aumentan inicialmente los niveles de leptina y posteriormente los disminuyen. Estos cambios no ocurren al administrar estrógenos. De esta forma se podría pensar que leptina podría actuar sobre las células esteroidogénicas del ovario. Esta posibilidad está apoyada por la presencia de receptores ováricos tanto en las células de la teca como de la granulosa del folículo. La activación de estos receptores por leptina exógena, produce efectos variables dependiendo de la especie, el tipo de células y el procedimiento de aislamiento de las células. Aunque existen evidencias contradictorias, los resultados más convergentes apuntan a que leptina *per-se* no tiene un efecto directo sobre la esteroidogénesis ovárica y más bien regula los efectos que sobre la esteroidogénesis tienen las gonadotrofinas , IGF-1, insulina o glucocorticoides. Debido a estos efectos, le leptina podría también participar en la génesis o mantención del síndrome del ovario poliquístico.
Fondecyt 199-077

SIMPOSIO IV

AVANCES RECIENTES EN NEUROBIOLOGIA MOLECULAR

Coordinador: Dr. Nibaldo Inestrosa

TARGETING MUTATIONS TO THE MOUSE DOPAMINE D2 RECEPTOR GENE. Rubinstein M, Gelman D., and Falzone T. INGEBI (CONICET) and Dept. Cs. Biologicas (FCEyN, UBA), Buenos Aires, Argentina.

The generation of knockout mice by targeted mutagenesis in embryonic stem (ES) cells is a powerful technique to study the function of a gene product *in vivo*. However, standard null allele mouse models have two major limitations. First, many genes are expressed in diverse sites and subserve multiple functions complicating the final phenotypical analysis. Second, the loss of gene expression throughout development may produce compensatory changes in the expression of other genes precluding a definitive assessment of gene function in the adult animal. We have encountered both of these confounding variables in the characterization of mice lacking dopamine D2 receptors. Loss of D2Rs produced a locomotor deficiency characterized by decreased initiation of movement and an endocrine syndrome of hyperprolactinemia and inexorable hyperplastic growth of the pituitary lactotrophs resulting in massive pituitary gland enlargement and pressure effects on the overlying brain. Compensatory adaptation of the developing nervous system to the total absence of D2Rs was evidenced by a hypolocomotor state that is significantly less severe than that induced by the acute pharmacological blockade of D2Rs in wild-type mice. To circunvent these drawbacks we targeted a «floxed» D2R allele to ES cells. Production of a D2R conditional knockout in selective areas will be achieved by stereotaxic injections of a replication-deficient, recombinant adenovirus engineered to express bacterial *Cre* recombinase. The restricted spatial mutants will be analyzed for the various functions attributed to the D2R.

CORTICAL CELLULAR AND SYNAPTIC FEATURES IN MICE AND RAT ALZHEIMER'S DISEASE TRANSGENIC MODELS. A. Claudio Cuello, Dept of Pharmacology & Therapeutics, McGill University, Canada

Cholinergic deficits are one of the most consistent landmarks in Alzheimer's disease (AD). We have examined AD transgenic (tg) mouse models (single transgenic lines: $PS1_{M146L}$ (Finn mutation) and $APP_{K670N,M671L}$ (Swedish) and a doubly transgenic line: APP (Swedish) + PS1 (Finn). The mice and corresponding littermates were investigated for cortical synaptic patterns at 8 months of age. At this time point these tg mice were found at different stages of the amyloid pathology this impacting differentially in the status of cholinergic presynaptic elements in the cerebral and hippocampal cortices[1]

We are presently attempting transgenesis studies in rat through an international collaboration involving the Virtanen Institute (Finland) , the ICGEB (Italy) and McGill University (Canada). Some of these new rat transgenic lines expresses human APP 751 with two mutations: the Swedish double mutation and the 717 mutation ,alone or in combination with PS1 Finn mutation. Both transgenes are driven by the platelet-derived growth factor (PDGF) promoter. Preliminary results indicate that some of these tg lines express the human-A-β transgene peptide intracellularly in pyramidal neurons of the cerebral cortex and hippocampus. Studies are in progress to determine the consequences of such intraneuronal accummulation of potentially amyloidogenic peptides. Further functional and morphological characterization of this and other lines is underway.

1) Wong et al, J. Neurosci.19:2706,1999).

Supported by the MRC , Canada

AChE INDUCES COGNITIVE DETERIORATION. Chilean Society of Biochemistry. Hermona Soreq, Ph.D., Dept. of Biological Chemistry, The Life Sciences Institute, The Hebrew University of Jerusalem, Israel 91904

Delayed, long-lasting deleterious changes of a similar nature occur in the mammalian brain in response to acute psychological stress, head trauma or exposure to acetylcholinesterase (AChE) inhibitors. *In vivo,* disruption of the blood-brain barrier under stress leads to efficient brain penetrance of anti-AChEs. This induces a cascade of transcriptional responses suppressing synthesis and vesicle packaging of acetylcholine. In parallel, enhanced production of the stress-associated "Readthrough" AChE isoform AChE-R potentiates acetylcholine hydrolysis. In perfused brain slices, the reduced acetylcholine bioavailability suppresses the neurophysiological excitation induced by anti-AChEs. Such suppression can protect the brain from increased susceptibility to seizure activity and neuronal toxicity. However, prolonged accumulation of AChE causes, in anti-AChE treated mice, delayed hypersensitivity to AChE inhibitors and excessive glutamatergic excitation. In AChE transgenic mice, inherited AChE excess causes progressive deterioration of cognitive and neuromotor faculties and creates an extreme sensitivity to head trauma, itself an important risk for Alzheimer's disease. To prevent the deleterious morphogenic activities of AChE that are independent of its catalytic capacity, AChE overexpression can be suppressed using antisense oligonucleotides (AS-ODNS). AS-ODN treatment prevents the AChE induction that follows head injury. In head injured AChE transgenic mice, AS-ODNs further minimized the morbidity, facilitated neurological recovery, improved survival of CA3 hippocampal neurons and limited excessive dendritic growth. These findings predict causal involvement of AChE excess with the cognitive deterioration accompanying various neurodegenerative syndromes and suggest antisense prevention of AChE overproduction for early intervention with the cascade of events leading from variable stress insults to long-term neurological consequences.

TRANSGENIC MICE IN ALZHEIMER'S DISEASE. EMPHASIS ON THE CHOLINERGIC SYSTEM. Bronfman F.C., Dewachter I., Spittaels K., Tesseur I., Van Dorpe J., Van den Haute C. and Van Leuven F. Experimental Genetics Group, Center for Human Genetics, Flemish Institute for Biotechnology, K.U.Leuven, Campus Gasthuisberg, B-3000 Leuven, Belgium.

Alzheimer disease (AD) is a complex disorder, manifesting as a severe deterioration of mental functions. AD brain is characterized by the presence of amyloid plaques, neurofibrillary tangles, synaptic loss, neuronal loss and a prominent cholinergic deficit. The exact relation between these lesions is unknown and important since only a primary event in the disease would qualify as a primary target for treatment. For obvious reasons fundamental studies of the disease in AD patients are not possible. We have developed several transgenic mouse strains that overexpress proteins relevant for AD as the microtubule binding protein tau, ApoE 4 alleles and amyloid precursor protein. Particularly the APP/London transgenic mice showed as early as 3-4 months learning and memory problems and disturbed behavior, and later at 12 months they develop amyloid plaques. We studied in detail the cholinergic system in young and aged APP/London transgenic mice and ApoE transgenic mice.

The results will be discussed in the context of transgenic models and the possible relation between the different pathological hallmark of AD.

SIMPOSIO V

MECANISMOS DE EXPRESION GENICA EN CELULAS VEGETALES

Coordinador: Dr. Loreto Holuigue

MECANISMO DE ACTIVACION TRANSCRIPCIONAL DE GENES DE DEFENSA A ESTRES OXIDATIVO POR ACIDO SALICILICO Y AUXINAS EN TABACO (Mechanism of transcriptional activation of oxidative stress-defense genes by salicylic acid and auxin in tobacco). Holuigue L., Garretón V., Hidalgo P., Carpinelli J., Salinas P. Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Fitohormonas como el ácido salicílico (SA), el ácido jasmónico (JA) y auxinas son capaces de activar la transcripción de genes que protegen a la célula de estrés oxidativo. Un grupo de estos genes codifica para glutatión S-transferasas (GSTs), cuya activación transcripcional está controlada por secuencias del tipo as-1 que se encuentran en su promotor. Estas secuencias reconocen factores de transcripción del tipo bZip de la familia TGA. La transcripción activada por SA in vivo de genes controlados por esta secuencia es transiente, no requiere síntesis proteica, y se correlaciona con un aumento en la actividad de unión de factores TGA a as-l. Nuestro interés es dilucidar el mecanismo por el cual SA aumenta la capacidad de unión de los factores TGA. Para ello utilizamos ensayos de transcripción in vivo, utilizando plantas transgénicas transformadas con el gen reportero as-l/GUS, y ensayos de unión DNA-proteína in vitro, utilizando extractos nucleares de plantas sometidas a distintos tratamientos. En este trabajo presentamos evidencias que indican que en la activación de estos factores por SA y auxinas participan una proteína quinasa nuclear del tipo caseína quinasa 2 (CK2) y señales derivadas de estrés oxidativo. Financiado por proyecto Fondecyt en Líneas Complementarias (8980005) y de doctorado (2980065 y 2980027).

ANALISIS DE LA EXPRESION DE GENES QUE CODIFICAN PARA PROTEINAS DE GOLGI INVOLUCRADAS EN LA SINTESIS DE POLISACARIDOS DE PARED CELULAR (Analysis of the expression of genes encoding for Golgi proteins involved in the synthesis of cell wall polysaccharides). Orellana A., González S., Yuseff, M.I. and Silva, H. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Unívesrsidad de Chile.

El aparato de Golgi de las células vegetales participa en la síntesis de hemicelulosas y pectinas. Nuestro laboratorio ha propuesto un modelo sobre el mecanismo que conduce a la síntesis de estos polisacáridos (Plant Physiol. 117: 1007-14, 1998). En este modelo tienen un papel importante los transportadores de nucleótidos azúcar y una nucleósido difosfatasa (NDPase) presente en el organelo. Recientemente hemos logrado clonar distintos genes que codifican para transportadores de nucleótidos azúcar y NDPasas. Hemos analizado la expresión de estos genes en distintos tejidos de Arabidopsis thaliana y Pisum sativam. Nuestra predicción era encontrarlos expresados principalmente en zonas de elongación, lugar donde ocurre una activa síntesis de polisacáridos; sin embargo hemos observado que algunos de ellos se expresan constitutivamente, y otros presentan un expresión tejido específica como por ejemplo en hojas. Estos resultados nos hacen pensar sobre una familia de genes que puede tener expresión diferencial en distintos tejidos y etapas del desarrollo, y cuya regulación podría estar relacionada con el control de la síntesis de polisacáridos de pared celular. Financiado por Fondecyt 1970494

EDICION DEL RNA EN ORGANELOS DE PLANTAS SUPERIORES (RNA editing in organelles of higher plants). Farré J-C., Bégu D., Blanc V. y Araya A. Laboratoire de Réglication et Expression des Genes Eukaryotes et Rétroviraux. CNRS et Unívesrité Viator Segalen-Bordeaux II. Bordeaux, France.

El flujo de la información genética requiere de una gran fidelidad en cada etapa de su transmisión. En las mitocondrias, y en menor grado en los cloroplastos de plantas superiores, este principio se ve abrogado. La estructura primaria de los transcritos organelares son modificados en un proceso denominado "RNA editing". Este consiste en la producción de residuos uridina, no codificados en el gen, mediante desaminación de residuos citosina del RNA. La edición afecta principalmente los RNAs mensajeros. En la mayoría de los casos modifica algunos codones internos pero también puede crear codones de iniciación o de terminación con incidencia en la secuencia de la proteína sintetizada. La edición de RNA afecta también algunos tRNAs. Su conservación durante la evolución de las plantas terrestres sugiere que la edición de los RNAs es importante para la función de la mitocondria. Hemos estudiado la organización, expresión y edición del transcrito del locus mitocondrial mat-r (maturasenadle-nadSIII). Este transcrito contiene el ORF de una proteína similar a las maturasas de hongos que poseen regiones homólogas con las transcriptasas reversas (RT). El locus mat-r está situado en el interior de un trans-intron del gen nad-1 que es cotranscrito con el trans-intron de nad5III. Además de la edición del ORF mat-r, fueron descubiertos dos sitios de edición C-U en regiones no codificantes. Los residuos editados se encontraron en posiciones análogas en el dominio VI de la estructura secundaria de ambos trans-intrones (nadle y nad5III). Las consecuencias de la edición que afectan la estructura secundaria de este dominio, importante para la maduración de los mRNAs, será discutida.
Este trabajo fue financiado por el "Ministere de l'Enseignoment Supérieur et de la Recherche", el "Conséil Réglone d'Aquitaine" (Pole Génie Biologique et Médical Aquitaine).

LAS PLANTAS COMO MODELO DE ESTUDIO DE LA TRANSFERENCIA EVOLUTIVA DE GENES DESDE LA MITOCONDRIA AL NUCLEO (Plants as a model to study gene transfer from the mitochondrion to the nualeus during evolution). Jordana, X., Figueroa, P., Gómez, I. y Carmona, R. Depto Genética Molecular y Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Después del evento de endosimbiosis que dió origen a la mitocondria, la mayor parte de la información genética presente en el endosimbionte procariótico se ha perdido o ha sido transferida al genoma nuclear. Este proceso de transferencia génica está aún ocurriendo en plantas. Por ejemplo, mientras varias especies de plantas contienen un gen mitocondrial funcional para la proteína ribosomal S14 (rpsl4) , hemos demostrado que en Arabidopsis y maíz el gen funcional ha sido transferido al núcleo. En maíz el gen transferido adquirió las señales necesarias para su expresión nuclear y para la destinación de la proteína a la mitocondria en una forma novedosa, insertándose en el intrón de un gen (sdh2) de otra proteína mitocondrial, la subunidad hierro-azutre del complejo II de la cadena respiratoria. Este locus sdh2-rpsl4 genera por splicing alternativo un transcrito que codifica para la proteína hierro-azufre (SDH2), y otro transcrito que codifica para una proteína quimérica SDH2(truncada)-RPS14, la que es importada a las mitocondrias y procesada para generar RPS14 libre. Estos resultados constituyen el primer ejemplo de splicing alternativo involucrado en la expresión y destinación de dos proteínas mitocondriales con funciones diferentes.
Financiado por Fondecyt 8980005 y ECOS-Conicyt C98B01.

SIMPOSIO VI

MECANISMOS MOLECULARES Y CELULARES DE LA NEURODEGENERACION SOCIEDAD DE FARMACOLOGIA DE CHILE

Coordinador: Dr. Sergio Mora

DOPAMINA, RECEPTORES DE NMDA Y FACTORES NEUROTROFICOS DURANTE LOS FENÓMENOS DE PLASTICIDAD Y ADAPTACION NEURONAL EN UN MODELO DE ENFERMEDAD DE PARKINSON (Plasticity and neuronal adaptation in an animal model of Parkinson's disease: interactions between dopamine, NMDA receptors and neurotrophic factors). Bustos, G. Lab. Farmacología-Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago.

Los síntomas neurológicos asociados a la degeneración de neuronas dopaminérgicas nigro-estriatales aparecen tardíamente y cuando el proceso degenerativo está casi completado. La pérdida de neuronas de dopamina (DA) en la substantia nigra (SN) parece ser compensado por cambios adaptativos en las neuronas de DA que sobreviven a la degeneración y/o por cambios adaptativos en otros sistemas de neurotransmisores presentes en los ganglios basales.
Utilizando un modelo experimental de Parkinson inducido por 6-OH-DA, hemos propuesto que las interacciones entre sistemas neuronales de DA y glutamato (GLU) en los ganglios basales, son esenciales para gatillar una respuesta adaptativa al daño neuronal DAérgico. Especialmente aquellas interacciones mediadas por el receptor de NMDA. Dicho receptor experimenta cambios funcionales, en cuerpo estriado (CE) y SN, cuando aún no se producen alteraciones conductuales en respuesta al daño neuronal. Nuestros resultados avalan un modelo en el cual la pérdida parcial de neuronas DAérgicas, gatilla paralelamente cambios en la función de receptores de NMDA en CE y SN, lo que a su vez permite un flujo de información neuronal adecuada a nivel de estos núcleos, y estimula además en ellos la expresión génica de factores neurotróficos como el BDNF ("factor neurotrófico derivado de cerebro"), permitiendo una mayor sobrevida y funcionalidad de las neuronas de DA remanentes a la lesión neuronal.
(Proyecto FONDECYT Líneas Complementarias # 8970010).

MODELOS CELULARES INMORTALES PARA EL ESTUDIO DE MECANISMOS DE NEURODEGENERACION. APLICACION AL SINDROME DE DOWN, ENFERMEDAD DE ALZHEIMER Y PARKINSON. (Immortal cell models for the sudy of neurodegenerative mechanisms: Applications in Down's syndrome, Alzheimer's and Parkinson's diseases) Pablo Caviedes[1,5], Ana María Cárdenas[2], Christian Arriagada[1], José F. Cortes[2], Rocío M. Alvarez[2], Stanley I. Rapoport[3], Takeshi Shimahara[4], y Raúl Caviedes[2]. [1]Programa de Morfología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, [2]Laboratorio de Farmacología, Escuela de Medicina, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile.[3]LNS/NIA/NIH, Bethesda, MD, USA; [4]NBCM, CNRS, Gif-sur-Yvette, Francia y [5]Centro de Estudios Científicos de Santiago, Chile.

El uso de técnicas de cultivo de tejidos es importante en el estudio de la fisiología y la fisiopatología a nivel celular. Nuestro laboratorio ha establecido diversas líneas celulares neuronales e inmortales de origen mamífero, utilizando un protocolo original. Las líneas establecidas provienen tanto de tejidos normales como de donantes con anomalías cromosómicas (trisomía 16 murina, modelo del síndrome de Down y enfermedad de Alzheimer). Otra línea celular derivó de *sustantia nigra* de rata. Todas las líneas retienen marcadores neuronales y carecen de marcadores gliales. Las células responden a la estimulación externa de neurotransmisores con cambios en los niveles de Ca^{2+} intracelular. En una línea derivada de corteza cerebral de ratón trisómico 16, existen diferencias cinéticas y en la amplitud de la respuesta a Ca^{2+} en comparación con la línea derivada de animal normal. Esta línea cortical también presenta déficit de función colinérgica. La línea derivada de *sustantia nigra* responde a efectos tóxicos de estimulación por dopamina. Los resultados indican que nuestras líneas celulares pueden constituir modelos para el estudio de función y disfunción neuronal *in vitro*.
Financiado por Fondecyt N°1980906, 7980058, DIPUV 0398, y Programa INSERM/Conycit.

THE POSSIBLE ROLE OF ONE-ELECTRON REDUCTION OF AMINOCHROME IN THE NEURODEGENERATION OF THE DOPAMINERGIC SYSTEMS. Segura-Aguilar, J.[1], Arriagada, C.[2], Dagnino-Subiabre, A.[1], Caviedes, P.[2], Armero[2], J.M., Caviedes, R.[2], Baez, S.[3]. [1]Program of Molecular and Clinical Pharmacology, ICBM, Faculty of Medicine, and [2]Program of Morphology, ICBM, Faculty of Medicine, University of Chile, Santiago, Chile; [3]Unit of Biochemical Toxicity, Wallenberg Laboratory, Stocholm University, Sweden;

Dopamine, like other catecholamines, can be oxidized in the presence of either oxygen at high pH, or other oxidants, to the corresponding ortho-quinone (aminochrome). We postulate that one-electron reduction of aminochrome to *o*-semiquinone radical is the reaction where the reactive oxygen species responsible of the neurodegenerative process in the dopaminergic system is formed. Aminochrome *o*-semiquinone is extremely reactive and autoxidizes in the presence of oxygen giving rise to a redox cycling process, which is accelerated by the antioxidants superoxide dismutase and catalase. In this redox cycling process reactive oxygen species are formed, by reducing dioxygen to superoxide radical. Hydrogen peroxide can be formed by dismutation of superoxide radicals and be precursor of hydroxyl radical in the presence of iron or copper. This redox cycling process continues until dioxygen, NADH and / or NADPH are depleted. Depletion of NADPH prevents the reduction of GSSG to glutathione (GSH) by glutathione reductase, since GSH is one of the main antioxidants in the cell. In addition, depletion of NADH prevents the formation of ATP in the electron transport chain of the mitochondria. The inhibition of DT-diaphorase with the specific inhibitor dicoumarol resulted in toxic effects of dopamine oxidized to aminochrome.
Acknowledgements: This work was supported by grants from FONDECYT (N° 1990622), (N° 1980906) and DID of University of Chile

MODULACION PRESINAPTICA DE LA LIBERACION DE AMINOACIDOS EXCITATORIOS EVOCADA POR HIPOXIA DESDE REBANADAS DE ESTRIADO DE RATA EN SUPERFUSION. (Presynaptic modulation of hypoxia-induced release of excitatory amino acids from rat striatal slices in superfusion). Gómez. A., Díaz L. Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Uno de los mecanismos etiopatogénicos involucrados en la injuria cerebral post anóxica es la elevación de los niveles extracelulares de aminoácidos excitatorios y la consecuente sobreestimulación de receptores glutamatérgicos, desencadenando el fenómeno de excitotoxicidad, el cual se liga a la injuria celular por calcio y al estrés oxidativo. Este mecanismo fisiopatológico de muerte neuronal subyace en una serie de entidades clínicas de primera importancia como son la asfixia perinatal, la encefalopatía post paro cardiorespiratorio, el infarto cerebral isquémico y el trauma craneoencefálico. Se ha comprobado que no es suficiente el bloqueo de los receptores glutamatérgicos del subtipo NMDA postsinápticos para prevenir la injuria neuronal aminoácidos excitatorios. Dentro de esta linea de pensamiento se ha intentado atenuar la liberación presináptica de glutamato, fundamentalmente con el empleo de fármacos bloqueadores de canales de sodio operados por voltaje. Un efecto similar es posible obtenerlo mediante el empelo de fármacos antagonistas del receptor NMDA. El uso de ketamina en un modelo in vitro de liberación de D-aspartato desde rebanadas de estríado en superfusión sometidas a hipoxia, previene la liberación masiva evocada por hipoxia del análogo tritiado de glutamato. Lo anterior reviste importancia por cuanto: a) ketamina es un fármaco anestésico de largo uso en clínica. b) ketamina ha sido ampliamente empleado en publicaciones que estudian efectos neuroprotectores de otras moléculas en modelos de hipoxia cerebral. c) se renueva el interés en el potencial uso clínico de antagonistas NMDA en episodios agudos de hipoxia cerebral. Se discuten los probables mecanismos de acción neuroprotectora de estas familias de fármacos.
Los autores agradecen a la Sandoz Foundation for Gerontological Research por el apoyo brindado.

SIMPOSIO VII
IMAGENES EN BIOLOGIA

Coordinadores: Octavio Monasterio y Juan Carlos Slebe

PROBING BIOMATERIALS WITH THE ATOMIC FORCE MICROSCOPE. Helen G. Hansma,* Christine Chen,* Roxana Golan,* Lia Pietrasanta,* Cody Sorenson,* Ilene Auerbach,*† and Patricia Holden†. *Department of Physics and †School of Environmental Science & Management, University of California, Santa Barbara, CA 93106, USA.

Recent AFM research in our laboratory has covered such diverse biomaterials as laminin and other macromolecules from basement membranes (Chen, C.H. et al., (1998) Biochem. 37, 8262-8267), DNA condensed for gene therapy (Hansma, H.G. et al., (1998) Nucleic Acids Res. 26, 2481-2487), DNA-protein complexes in the yeast kinetochore (Pietrasanta L.I. et al., (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 96, 3757-3762), and biofilms of the bacterium Pseudomonas putida. When laminin, a major glycoprotein of basement membranes, is analyzed by AFM in air, it shows a variety of conformations of its cruciform structure. Time-lapse images of a single laminin molecule in aqueous solution demonstrate the flexibility of the laminin arms as they move and bend. Quantitative AFM analyses of DNA condensed for receptor-mediated gene therapy indicated that single plasmid molecules of 6800 base pairs (bp) condense into single toroids of ~110 nm diameter. The apparent length, by AFM, of DNA in a DNA-protein complex from a yeast centromere is significantly shorter than the uncomplexed DNA. Also, the existence of complexes with 4 DNA arms suggests that these yeast CBF3 proteins may be involved in holding chromosomes together during cell division. AFM analyses of Pseudomonas putida biofilms reveal a complex extracellular structure that was maintained even after the biofilms were washed with water. A recent AFM review covers other aspects of biological AFM, in addition to the research going on in our laboratory (Hansma, H. G., and Pietrasanta, L. (1998) Current Opinion in Chemical Biology 2, 579-584). Supported by NSF MCB 9604566 and NSF DMR 9632716.

TWO-PHOTON FLUORESCENCE MICROSCOPY: IMAGING AND SPECTROSCOPY. Joachim D. Mueller. Department of Physics, LFD, University of Illinois at Urbana-Champaign Urbana, IL 61801 USA

Two-photon excitation describes the simultaneous absorption of two long-wavelength photons by a fluorophore before emitting light. Combining two-photon excitation with microscopy provides several advantages for the study of biological samples. Fluorescence excitation is limited to the focal point of the objective. Thus, two-photon microscopy provides inherent three-dimensional resolution together with efficient background rejection. It limits photobleaching to the focal region, and results in a large wavelength separation between the excitation and the emission light.
The low scattering and absorption coefficient in the near infrared allow tissue imaging with penetration depths on the order of 200 mm. The low phototoxicity and reduced photobleaching of two-photon microscopy allow functional studies of cells over extended periods of time. The two-photon microscope is well suited for the study of fluorescence fluctuation experiments. The intensity fluctuations of fluorescently tagged biomolecules are exploited, which allow the characterization of transport processes and kinetic properties of biomolecules on the molecular level.
Statistical analysis of the fluctuations also allows the resolution of multiple species. While most fluctuation experiments involve solution studies, recently progress has been made to apply fluorescence fluctuation spectroscopy inside of living cells.

IMAGING BY NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE. PRINCIPLES AND APPLICATIONS H. Panepucci. Instituto de Fisica de Sao Carlos, Universidade de Sao Paulo, Brasil

Short after its discovery in 1946 Nuclear Magnetic Resonance, or NMR, turned into one of the most powerful spectroscopic tools to explore the structure of organic molecules. The subsequent introduction of pulsed methods and fast computing lead to the development of multidimensional spectroscopic techniques that today allow the elucidation of complex structural questions involving large biomolecules. Lauterbur's proposal in 1973, to use NMR to map proton distributions by the use of magnetic field gradients gave rise to a fully new range of applications generally known as Magnetic Resonance Imaging or MRI.
Since its early days MRI has also undergone impressive development and the availability of ever-higher field magnets and fast strong pulsed gradients made possible to attempt applications way beyond the radiological kind of clinical diagnosis. Localized «in vivo» Spectroscopy, Functional Imaging and Microimaging are today adding to the research arsenal of the Biologist.
This presentation intends to review the principles of MRI and some of the above applications discussing related instrumental requirements.
Finally an overview of the work done in Sao Carlos developing clinical MRI scanners and high field microimaging will be presented.

USE OF LOCALIZED ESR (EPR) SPECTROSCOPY TO UNCOVER THE ORIGINS OF PATHOLOGICAL AND ENVIRONMENTAL BIORADICALS. Lawrence J. Berliner and Hirotada Fujii. Laboratory of In-Vivo Electron Spin Resonance Spectroscopy, Departments of Chemistry and Medical Biochemistry, The Ohio State University, Columbus, OHIO

Localized EPR(ESR) shows much promise in the field of materials research, chemistry and physics with the promise of observing natural occurring free radicals due to fissures, oxidation, etc. The measurement of biologically relevant free radicals in living systems is a major goal with the giant strides of MRI and MRS as benchmarks. The lecture will present some basic fundamentals of the of electron magnetic resonance technique. Then a 'hospital tour' of examples of applications to problems the detection and localization of free radicals in animal systems will be described. Some topics will involve detection of drug intermediates in animals and the detection and generation of 'natural' free radicals such as nitric oxide during pathological stress.

RAMAN MICROSCOPY: FROM CONCEPT TO APPLICATIONS IN BIOLOGY AND MEDICINE. José V. García-Ramos. Instituto de Estructura de la Materia. CSIC. Serrano, 121. 28006 Madrid. Spain.

The subject of this talk is the Raman effect, a phenomenon which results from the interaction of light and matter. In particular, the talk is concerned with the small world of microcrystals, microorganisms, etc., some of those areas in which Raman microspectroscopy enjoys wide acclaim. The introduction to the various applications of this technique therefore includes the interaction of electromagnetic radiation with molecular systems. The scattering of light, as a result of its interaction with matter, can be classified as elastic (Rayleigh scattering) or inelastic (Raman scattering). In the former case the scattered light is observed at the same frequency as the incident light. On the other hand, inelastically scattered light, which is detected at different frequencies, constitutes the Raman spectrum of the sample. The first experimental observation of the inelastic scattering was made by Raman and Krishnan in 1928, using a focused, filtered beam of sunlight as source and the human eye as detector. The renaissance of Raman spectroscopy was inspired by the invention of laser (1960), the ideal source for Raman spectroscopy. The birth of Raman microspectroscopy dates from 1966, when Delhaye et al. pointed out that the intensity of Raman scattered light should not decrease with decreasing sample volume, as might be intuitively expected. Within a few years the basic principles of Raman microspectroscopy were defined and, soon after, two different systems were described. One of them, which was subsequently commercialized, provides for Raman imaging (mapping), as well as single-point analysis. Some examples of different applications of Raman microspectroscopy in Biology and Medicine are presented, including Bioaccumulations (lysosomes, spherocrystals, secretion products, etc.), Living samples, Ultrastructures, Ocular Lenses, etc.

SIMPOSIO VIII

USO DE LA TOXICOLOGIA MECANISTICA EN EVALUACION DE RIESGO DE AGENTES QUIMICOS AMBIENTALES

Coordinador: Dr. Lionel Gil

GENETIC POLYMORPHISM OF PHASE I AND II ENZYMES IN HUMAN RISK ASSESSMENT. Berthou, F., Lucas, D., Gil, L.*, Albores, A.**, Laboratoire de biochimie - EA-948, Faculté de Médecine. BREST (France) ; *Laboratoria de Bioquimica y Toxicologia Ambiental, Universidad de Chile, SANTIAGO, ** CINVESTAV del IPN, MEXICO.

Phase I enzymes (cytochrome P450) and phase II enzymes (glutathione S-transferase –GST- and N-acetyltransferase-2-NAT-2) are involved in the metabolic activation of numerous xenobiotics, including environmental toxic chemicals and carcinogens. Pharmacogenetic and ecogenetic polymorphisms are the study of hereditary basis of the difference in response to drugs and environmental chemicals, respectively. To date, more than a dozen clinically relevant polymorphisms have been described : CYP1A1, CYP2A6, CY2C19, CYP2D6, CYP2E1, GSTμ, NAT-2. These polymorphisms can be characterised at the phenotypic (measurement of the metabolic ratio of a probe drug) or genetic level (PCR-RFLP techniques). Until now, efforts have been focused on this association of CYP genetic polymorphism mainly with cancer and less with the occupational toxicity. The goal of the international research program associating latino-american and european countries (CYPLAM) is to assess the role of CYP1A/ CYP2E1 genetic polymorphism in the susceptibility of workers to chemical toxicity in occupational exposures to volatile organic compounds, polycydic aromatic hydrocarbons and petrol-diesel hydrocarbons.
The first results of pharmacogenetics established CYP2E1 (c1/c2 and C/D), CYP1A1 (m1/m2 and Ile/Val) and GST M1 (null) allelic frequencies in Chileans (n=96) and French subjects (n=81). The rare allele frequencies were found to be 0.15 (c2), 0.21 (c), 0.23 (m2), 0.32 (Val) and 0.21 («null») genotype in Chileans. These value are significantly different from those of Caucasians. The first results of ecogenetics demonstrated that the CYP2E1 phenotype measured by chlorzoxazone metabolic ratio was lower for workers exposed to volatile organic solvents in a shoe factory of Leon – Mexico : 0.149 ± 0.078 (n=39) versus control 0.227 ± 0.14 (n=19) ($p = 0.0085$).
Supported by INCO-programme N° ERB-IC18-CT98-0341

MARCADORES BIOLOGICOS Y QUIMICOS DE EXPOSICION Y RIESGO UTILIZADOS EN EVALUACION DE RIESGO AMBIENTAL. (Chemical and Biological Markers of Exposure and Effects on Risk Assessment). Gil L. and Adonis M. ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Santiago de Chile es una de las ciudades con más altos niveles de contaminación del aire de Latinoamérica. Los niveles de los contaminantes regulados, PM_{10}, Ozono y monóxido de carbono han obligado a declarar a Santiago como zona saturada e influyen en la alta incidencia de enfermedades respiratorias en los grupos más susceptibles de la población. Los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAPs) son contaminantes no regulados que presentan un alto riesgo para la salud de la población ya que muchos de ellos son potentes agentes mutagénicos, carcinogénicos o promotores. Los niveles de 16 HAPs, han sido determinados por HPLC en extractos orgánicos de partículas totales en suspensión (EOPTS) y de partículas respirables (EOPR). OEPR (fracción fina, menor de 2,5 μm de diámetro y fracción gruesa, 2,5-10 μm de diámetro) presentan altos niveles de HAPs incluyendo 6 clasificados como carcinógenos por IARC y que representan al menos el 45% de la concentración total de HAPs. Cada año se presenta un efecto estacional con las concentraciones más altas de HAPs en los meses de temperaturas más bajas. Aún cuando, en los últimos años se ha observado una importante disminución en los niveles de HAPs en todas las fracciones de MP estudiadas, los niveles de HAPs cancerígenos son aún más elevados que los obtenidos en estudios recientemente publicados de ciudades Estados Unidos, Australia, Japón y Europa. EOPTS y EOPR son altamente mutagénicos y contienen mutágenos directos e indirectos, que producen mutaciones del tipo frameshift y sustituciones de bases en *Salmonella thyphimurium*. Estos extractos son también potentes mutágenos en el locus tk de cultivos de linfoblastos humanos y su potencia mutagénica es 400 veces más alta que la de extractos de material particulado de Los Angeles U.S.A.. Al incubar *in vitro* extractos orgánicos de material particulado con DNA de Calf thymus, se han identificado 5 aductos de nitro-HAP-DNA, sugiriendo una importante contribución de los nitroarenos a la toxicidad del material particulado. Aunque se ha observado una importante baja en los niveles de HAPs, la mutagenicidad directa no ha disminuido, sugiriendo que los niveles de mutágenos directos (nitroarenos) no han decrecido significativamente en los últimos años. Los nitroarenos se producen por reacciones fotoquímicas de HAPs y óxidos de nitrógenos, o son emitidos por combustión incompleta de combustibles fósiles, especialmente en motores diesel. Estos resultados sugieren que la población de Santiago está expuesta a contaminantes altamente mutagénicos los cuales representan un riesgo para la salud humana. Estudios realizados por nuestro laboratorio en Temuco han demostrado que el problema de contaminación de aire no es sólo de Santiago ya que en periodo de invierno se determinaron altos niveles de material particulado respirable, elevados niveles de HAPs y de actividad mutagénica.
Financiado por Proyecto Comunidad Europea INCO N° 972631.

USE OF MECHANISTIC INFORMATION IN RISK ASSESSMENT. Dekant, W., Department of Toxicology, University of Würzburg, Würzburg, Germany.

One of the major enviromental issues of concern is the control of potential health hazards to humans. The concern arises from the increasing numbers of chemicals in use demonstrated to exert toxic effects. This situation has afforded growing legislative control of the production and application of chemicals to ensure adequate protection of human health. The assessment of potential human health risks resulting from the exposure to chemicals provides the fundamental basis for appropriate regulatory and control measures. The scientific risk assessment considers the available data on the toxicology of a chemical. Toxicology focuses on the identification and quantitation of potential hazards using animal studies as surrogates for humans. Permissible exposure levels for humans are derived from the results of the animal studies by using margins of safety or defining "acceptable" incidences of adverse health effects in exposed humans.

Health risk assessment and its use has generated an intense controversy. This controversy has caused a rethinking of the health risk assessment process and increased the awareness that the scientific foundation for risk assessments is often weak. This led to the conclusion that the development of effective prevention strategies and rational priority setting may only be achieved by strengthening the scientific background by research and by developing better methods to estimate risks. The health risks due to the contact with potentially toxic chemicals are dependent on the conditions of exposure, since not only the intrinsic toxicity of a chemical determines the magnitude ot the adverse effect but also the dose. The magnitude of the toxic effects is the product of the intrinsic toxicity of a chemical multiplied by the dose taken up by exposed animals or humans; thus, all toxic effects are dose-dependent and even very toxic chemicals may not cause toxic effects when the dose is low. If the dose is zero, despite a very high intrinsic toxicity of a specific chemical, the toxic effect and the risk of adverse health effects will be zero. On the other hand, chemicals with low intrinsic toxicity may induce toxic effects when the dose is high and may thus pose a significant risk. In toxicological terms, risk is therefore the product of the intrinsic toxicity of a chemical and the expsoure characteristics. The hazard identification, the exposure assessment, and the dose-response assessment merge into risk characterisation. Risk characterisation estimates the incidence of expected adverse health effects in exposed populations. As noted above, risk characterisation and the establisment of acceptable exposure levels are handled differently for carcinogenic and for non-carcinogenic xenobiotics.

For chemicals that cause adverse effects by mechanisms with "thresholds", the "Safety factor" approach was developed. For non-threshold responses such as cancer, both quantitative and qualitative risk assessment procedures are used. The role of mechanistic data in both processes will be discussed using specific examples.

INCORPORACIONES

INCORPORACIONES I

INYECCION INTRACEREBRAL EN RATAS DE COMPLEJOS DE ACETILCOLINESTERASA-β-AMILOIDE: CARACTERIZACION MORFOLOGICA Y EFECTO EN MEMORIA ESPACIAL. (Intracerebral injection of acetylcholinesterase-β-amyloid complexes: morphologic characterization and effect on spatial memory). Reyes, A.E. e Inestrosa, N.C. Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La enfermedad de Alzheimer (AD) se caracteriza clínicamente por una disminución progresiva de funciones cognitivas. La neuropatología revela la aparición de placas seniles (PSs) y ovillos neurofibrilares en el cerebro. Las PSs están formadas principalmente por péptido β-amiloide (Aβ) y con él colocalizan diferentes proteínas incluyendo acetilcolinesterasa (AChE).
Estudiamos el efecto de la inyección intra-hipocampal de fibras de Aβ y complejos AChE-Aβ, en neurodegeneración y en memoria espacial usando el paradigma del Morris water maze. Después de dos y ocho semanas post-inyección se analizaron cortes seriados del cerebro de rata utilizando métodos histoquímicos. Depósitos Aβ–positivos fueron inmunodetectados en ambos tratamientos, sin embargo estos fueron significativamente más grandes en animales inyectados con complejos AChE-Aβ a ocho semanas de incubación. Se confirmó la presencia de amiloide usando tioflavina-S y rojo Congo. Mediante inmunohistoquímica estudiamos la presencia y distribución de laminina en las lesiones. Animales inyectados con Aβ y complejos AChE-Aβ mostraron alteraciones significativas en aprendizaje espacial.
Nuestros resultados muestran que la inyección de complejos de AChE-Aβ no sólo resulta en depósitos amiloídeos tipo Alzheimer diferentes a las encontradas en animales inyectados con péptido solo, lo que se refleja en alteraciones a nivel de aprendizaje.
FONDECYT 2970074 y 4990012 a A.E.R., Cátedra Presidencial en Ciencias y FONDECYT 1971240 a Dr. N.C.I.

MELATONINA ¿HORMONA CITOPROTECTORA DE ESTRES OXIDATIVO EN SISTEMAS BIOLOGICOS? (Melatonin ¿Is it a cytoprotective hormone of oxidative stress in biological systems?) Aguilera, F. Departamento Química Farmacológica y Toxicológica. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Melatonina (MEL) hormona secretada por la glándula pineal, cumple su rol en una variedad de ritmos circadianos de procesos fisiológicos y neurológicos. Estudios recientes indican que MEL además, es un potente atrapador de radicales libres: $O_2^{\cdot-}$, $HO^{\cdot}$, $ROO^{\cdot}$. Bajo estrés oxidativo, estas especies pueden modificar irreversiblemente macromoléculas biológicas. Ellas pueden ser generadas por el sistema oxidativo del citocromo P_{450} en el retículo endoplásmico y en reacciones catalizadas por metales de transición, como hierro y cobre. Se postula que MEL es capaz de secuestrar radicales libres; así debería proteger a los componentes del retículo endoplásmico: lípidos, citocromo P_{450} y UDPGT, del daño oxidativo inducido por Fe^{3+}/Ascorbato.
MEL inhibió la lipoperoxidación microsómica (preparación enriquecida en retículo endoplásmico) inducida por Fe^{3+}/Ascorbato (TBARS). Asímismo, protegió la conjugación de p-nitrofenol catalizada por la UDPGT. Ambos efectos se obtuvieron a la concentración de MEL 1,0 mM. Además, MEL protegió tanto la absorbancia del citocromo P_{450}, como la O-desmetilación de p-nitroanisol catalizada por el sistema oxidativo del citocromo P_{450} a la concentración 5 μM. Probablemente los mecanismos involucrados en la protección del citocromo P_{450} son diferentes a aquellos que provocan la protección de los lípidos y la UDPGT. Se postula que ambas formas de MEL, la reducida y la oxidada participan en los efectos benéficos observados.

OSCILACIONES DEL POTENCIAL DE MEMBRANA TIPO THETA INDUCIDAS POR ACTIVACION DEL RECEPTOR NMDA Y ESTIMULACION SINAPTICA EN NEURONAS PIRAMIDALES DE CA1 (Theta-like membrane potential oscilation induced by NMDA receptor activation and synaptic stimulation in rat CA1 pyramidal neurons) Bonansco C.*, Borde, M. y Buño, W. Instituto Cajal, CSIC, Madrid. *Fac. Ciencias, U.Playa Ancha, Valparaíso.

Se analizaron los efectos inducidos por la activación específica de los receptores NMDA (NMDARs) en neuronas piramidales de CA1 de rata mediante registro intracelular, utilizando la técnica de rebanadas de hipocampo. La aplicación microiontoforética de NMDA en *s.radiatum* indujo oscilaciones rítmicas del potencial de membrana (5-25mV, 50-300ms; 2-10Hz), con salvas de potenciales de acción (PA). En presencia de CNQX (50μM), tanto la aplicación de Glutamato como la estimulación sináptica indujo actividad oscilatoria. Estas oscilaciones se caracterizaron por: 1) presentar una amplitud inicial subumbral y regenerativa, la cual se incrementa hasta alcanzar el umbral de disparo de una salva de PAs. 2) ser evocadas entre potenciales de membrana de –95 y –60mV, cuya frecuencia aumenta por despolarización y 3) ser insensibles a TTX (1.5μM), pero inhibidas en presencia de APV (25μM), en ausencia de Mg^{2+} o Ca^{2+} extracelular, carbacol (10μM), y BAPTA intracelular, mientras que nifedipina (20μM) reduce su amplitud. Estos hallazgos indican que estas oscilaciones, originadas a nivel dendrítico activan propiedades intrínsecas de la neurona, y requieren de: i) el bloqueo por Mg^{2+} de los NMDARs, ii) despolarización y subsecuente entrada de Ca^{2+} a través de canales de calcio regulados por voltaje y NMDARs y iii) repolarización por activación de la corriente de K^+ dependiente de Ca^{2+} lenta. La similitud de estas oscilaciones con la actividad theta intracelular observada *in vivo* sugiere que los NMDARs podrían estar implicados en la génesis del ritmo theta.
C.B. becario MUTIS, ICI (España); MIDEPLAN, AGCI (Chile). Fac. Cs. U.Playa Ancha (Chile)

INCORPORACIONES II

MICROSOMAS DE HIGADO DE RATA SOMETIDOS A ESTRES OXIDATIVO. ACCION ANTIOXIDANTE DE LEUCOSELECT. (Rat liver microsomes exposure to oxidative stress. Antioxidant effect of leucoselect). Pimentel, A. Departamento Química Farmacológica y Toxicológica. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Preparaciones aisladas de *Vitis vinifera* y en especial **leucoselect**, ejercerían sus efectos farmacológicos a través de mecanismos basados en su capacidad de secuestrar especies radicalarias del oxígeno y de unirse a membranas biológicas. El retículo endoplásmico es el responsable principal de la biotransformación de xenobióticos; en él se ubican el sistema oxidativo del citocromo P_{450}, la UDPGT y la GSH-transferasa. La unión de leucoselect a microsomas (preparación enriquecida en retículo endoplásmico) puede proteger los fosfolípidos y las proteínas insertas en él, del estrés oxidativo inducido por Cu^{2+}/Ascorbato.
La preincubación de microsomas con leucoselect, provocó inhibición de la lipoperoxidación inducida por Cu^{2+}/Ascorbato, cambios en la absorbancia del citocromo P_{450}, aumento de la actividad O-desmetilante de p-nitroanisol, protección total de la inhibición de esta actividad enzimática inducida por Cu^{2+}/Ascorbato e inhibición de la actividad GSH-transferásica Por otra parte, leucoselect no modificó la glucuronidación de p-nitrofenol, ni la inhibición de la actividad GSH-transferásica inducida por Cu^{2+}/Ascorbato. Los efectos benéficos sobre las actividades enzimáticas se deberían a cambios conformacionales, provocados por la unión de leucoselect a la membrana y a su capacidad de inhibir procesos oxidativos inducidos por Cu^{2+}/Ascorbato.
Financiado por ARAMA Laboratorios.

CARACTERIZACION DE LA EXPRESION DE PROLACTINA DEL PEZ TELEOSTEO *Cyprinus carpio*. (Characterization of prolactin expression in the teleost *Cyprinus carpio*). Figueroa, J. E., Kausel, G., Barra, V., Fernández, K. Muñoz, D. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia. (E-mail: jfiguero@uach.cl)

Los organismos ectotermos como el pez *Cyprinus carpio*, que están sometidos a fluctuaciones cíclicas del ambiente, deben adaptarse a los cambios que este conlleva. Entre las principales variables se encuentran la temperatura y el fotoperíodo. El análisis semicuantitativo de hormona de crecimiento, somatolactina y prolactina, reveló que esta última cambia más dramaticamente en carpas aclimatizadas. Sin embargo, hasta ahora se desconoce el inductor de esta hormona en peces.
Arginina-vasotocina e Isotocina son nonapéptidos, generados como parte de la expresión de una poliproteína mayor que contiene varios motivos. Postulamos que uno de ellos, el copeptin, es relevante en la regulación de la expresión de prolactina desde la *rostral pars distalis* (RPD) de pituitaria de carpa. Para clonar ambos genes de carpa y establecer su posible interrelación con prolactina, se amplificó una sonda de 170 pb. La especificidad fue confirmada por secuenciación.
Paralelamente, se explora la participación de calicreína glandular (KG) en el procesamiento de prolactina. Esta es una serina-proteasa, que en mamíferos interviene generando formas procesadas de PRL. Nuestros resultados de western blot indican que KG está presente en la hipófisis de carpa además de otros órganos. Análisis por inmunocitoquímica muestra inmunotinción en la RPD en las mismas células que generan PRL.
Proyecto FONDECYT 1990710

PARAPLEGIA ESPASTICA AUTOSOMICA DOMINANTE TIPO PURA LIGADA Al CROMOSOMA 8q EN UNA FAMILIA BRASILERA: ANALISIS DE LA SINTROFINA BETA 1 EN MUSCULO. (Autosomal dominant pure spastic paraplegia in a Brazilian family: linkage to chromosome 8q and study of muscle syntrophin beta 1). Rocco,P.[1,2]; Vainzof, M.[1,3]; Froehner, S.C.[4]; Marie, S.K.N.[3]; Passos-Bueno, M.R.[1]; Kunkel, L. M.[5] y Zatz, M.[1] 1)Dept. of Biology, U. De Sao Paulo; 2)Depto. Biol Cel. y Molec., Fac. Cs. Biológicas, P. Univ. Católica de Chile 3) Universidad de Sao Paulo; 4)School of Medicine, Chapel Hill; 5) Howard Hughes Medical Institute, Children' s Hospital, Boston
(Patrocinio: Pilar Carvallo)

La Paraplegia Espástica Hereditaria autosómica dominante (AD-HSP) constituye un grupo genéticamente heterogéneo de desordenes degenerativos del sistema motor central, caracterizado por una espasticidad progresiva de los miembros inferiores. La AD-HSP puede ser clasificada en dos formas: pura y complicada. Hasta el momento han sido identificados cuatro loci para la forma pura en los cromosomas 14q, 2p, 15q y 8q. Estudiamos una familia Brasilera con 16 afectados (AD-HSP). Se realizaron estudios de ligamiento genético con 13 miembros de la familia (6 afectados) y fueron excluidos los loci SPG3 (14q), SPG4(2p) y SPG6 (15q). Valores de Lod score positivos (Z= 3.01; Z=2.8)se obtuvieron para SPG8 (8q). En esta región se localiza el gen para la sintrofina beta 1 (SNT2B1), una proteína asociada a la distrofina. Los estudios de inmunohistoquímica y Western en una biopsia muscular de un individuo afectado, con un anticuerpo anti-sintrofina mostraron una proteína normal. Hasta el momento, no es posible confirmar que un defecto en esta proteína sea la causa de la HSP en esta familia. (Apoyado por FAPESP, CNPq, PADCT, CAPES y PRONEX)

INCORPORACIONES III

POLILLAS DE MAR: ES LA LA COLORACION VARIABLE EN JAIVAS JUVENILES UN AGENTE DE PROTECCION CONTRA DE LA DEPREDACION?. (Pepper moths of the sea: does variable coloration in juvenile marine crabs reduces risk against visual predators?) Palma, A.T. Departamento de Ecología, P. Universidad Católica de Chile, Alameda 340, Casilla 114-D Santiago, Chile y Steneck, R.S. Darling Marine Center, University of Maine, Walpole, Maine 04573, USA.

Encontramos que jaivas marinas recien asentadas exhiben una variedad de coloraciones temprano en su vida bentónica. Nuestras observaciones muestran que este policromatísmo predomina en poblaciones de pequeñas jaivas debido a que ellas se confunden con los colores del fondo subyacente, eso sí, sólo cuando se encuentran en presencia de depredadores visuales tales como peces. Nuestros experimentos mostraron que este policromatismo cromático no ocurre en hábitats tridimensionales monocromáticos o en hábitats policromáticos libres de depredadores. Virtualmente, todas las jaivas adultas son monocromáticas, conspícuas e independientes de refugios. Nosotros sugerimos que jaivas de tales tamaños ya no son vulnerables a la depredación por lo que el policromatísmo no les confiere ventajas ecológicas. Este fenómeno de policromatismo entre recién asentados y monocromatísmo entre individuos mayores ocurre en un ambiente que está predominantemente dominado por pequeños peces depredadores, por lo que individuos de mayor tamaño estarían más seguros. Esto sugiere que el comportamiento y la crípsis visual son de vital importancia temprano en la vida bentónica por lo que esta transición debe ser importante, tanto desde una perspectiva ecológica como microevolutiva.

AUTOFECUNDACION Y ALOFECUNDACION EN EL OFIURO INCUBANTE *Amphipholis squamata*. (Selfing and outcrossing in the brood protecting ophiuroid *A.squamata*). Poulin E.[1,2,3], J.P. Féral[1], L. Cornudella[3] & V. Alvà[4.1] Departamento de Ecología, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.[2] Observatoire Océanologique, Banyuls-sur-mer, Francia.[3] Department of Molecular and Cellular Biology, CID-CSIC, Barcelona, España.[4] Institut de Ciencies del Mar-CSIC, Barcelona, España

Amphipholis squamata es un pequeño ofiuro (disco de 2 a 3 mm de diámetro) de distribución cosmopolita, a excepción de las regiones polares. Forma densas poblaciones locales ocupando generalmente microhábitats como el alga calcarea *Corallina*. Su bajo potencial de dispersión, debido a la ausencia de estadio larval libre, se contrapone con su amplia distribución geográfica. "Rafting" se podría considerar como el modo de dispersión para esta especie.Sin embargo, este mecanismo es esporádico, más apropiado a los eventos de colonización que a la mantención de un flujo genético entre poblaciones, por lo cual no podría explicar la cohesión de esta especie a gran escala geográfica. Evaluamos la posibilidad de autofecundación en esta especie antes de investigar su estructura genética. De hecho, se ha demostrado que los óvulos y los testículos están conectados a la misma bolsa y maduran simultaneamente. Probamos esta hipótesis mediante análisis de paternidad entre crías incubadas y su progenitor mediante la técnica de RAPDs como imprentas genéticas. Este análisis demostró: la existência de una gran variabilidad genética entre adultos; una perfecta similitud entre algunos juveniles incubados y su progenitor (favoreciendo la hipótesis de autofecundación); y la ocurrencia de juveniles con patrón genético diferente al paternal, lo que demuestra la existencia de fertilización cruzada. Este es el primer caso de autofecundación facultativa descrito en equinodermos.

ECOLOGIA TERMICA DEL PINGUINO DE HUMBOLDT (*Spheniscus humboldti*): EFECTO DE LA SELECCION DE SITIOS DE NIDIFICACION SOBRE LA SOBREVIVENCIA DE ADULTOS Y CRIAS. (Thermal ecology of the Humboldt penguin (*Spheniscus humboldti*): effects of nest-site selection on adults and chicks survival). Soto-Gamboa M., Rosenmann M.[1] y Bozinovic F. Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. [1]Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La selección de hábitat es un proceso importante en el desarrollo y desempeño de un organismo. En este proceso, los factores físicos pueden ser determinantes. La temperatura ambiental es una de las variables más importantes en determinar la selección de hábitats. En este trabajo se evalúa las diferencias térmicas de dos ambientes de nidificación (roca y tierra) que utiliza el pingüino de Humboldt (*Spheniscus humboldti,* Meyen). También, se evalúa el efecto térmico de estos sitios sobre la sobrevivencia de los adultos y las crías. Los resultados indican que las cuevas construidas en tierra presentan temperaturas más altas que las de roca durante la primavera y verano. Los adultos presentes en estas cuevas aumentan en forma significativa su temperatura corporal. Por otra parte, las crías nacidas en estas cuevas alcanzan más rápido la regulación de la temperatura corporal y presentan una menor tasa de mortalidad. A partir de esto, se concluye que los adultos están sometidos a un compromiso entre la selección de ambientes térmicos y la sobrevivencia de las crías.

Agradecimienos: Proyectos DTI PG-029-97 y FONDECYT 1980959.

METABOLISMO MAXIMO Y BASAL EN ENDOTERMOS: IMPLICANCIAS SOBRE LIMITES DE DISTRIBUCION. (Basal and maximum metabolic rate in endotherms: implications on limits of distribution). E.L. Rezende[1], F.F. Novoa[2] y F. Bozinovic[1]. [1]Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile; [2]Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago, Chile.

La distribución geográfica de los animales está estrechamente relacionada con sus capacidades fisiológicas. Específicamente, la capacidad energética de los endotermos (considerada aquí como metabolismos máximo y basal) debe tener una relación directa con su ambiente térmico. Sin embargo, se sabe muy poco sobre la relación entre ambas variables. Nuestro estudio tiene como objetivo determinar la influencia del ambiente térmico sobre la capacidad termogénica en aves y mamíferos. Se obtuvo experimentalmente, y además se revisó en literatura, datos de metabolismo máximo y basal en varias especies de estos dos grupos. Paralelamente, se caracterizó el ambiente térmico en donde fueron capturados los ejemplares. Encontramos que individuos en ambientes fríos presentan metabolismo basal y máximo superiores a los predichos por sus masas corporales. Queda claro, de esta forma, que la energética en endotermos está estrechamente asociada con su ambiente térmico. Discutimos como este carácter fisiológico afecta los límites de distribución de endotermos, y por lo tanto en su distribución geográfica.

Financiado por FONDECYT 1980959.

INCORPORACIONES IV

VARIABILIDAD ESPACIAL Y TEMPORAL EN LA ACTIVIDAD Y USO DEL ESPACIO EN *Octodon degus*: ¿UN COMPROMISO ENTRE TERMORREGULACIÓN Y DISPONIBILIDAD DE ALIMENTO? (Spatial and temporal variability in activity and space use of degus: A trade off between thermoregulation and food availability?) Bacigalupe, L.D.; Rezende, E.L. y Bozinovic, F. Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile

Mediante observaciones en terreno, se analizó la influencia de las condiciones térmicas y de la disponibilidad de alimento en el uso del tiempo (diario y estacional) y el espacio (áreas cubiertas y descubiertas de vegetación) en un roedor diurno de Chile central, *Octodon degus*. Encontramos que este animal presenta un patrón de actividad temporal dependiente del ambiente térmico. En verano se observaron patrones de actividad uni y bimodales, en áreas cubiertas y descubiertas respectivamente. Cuando la temperatura operativa es inferior a 37°C, 75% de los individuos se encontraron en áreas descubiertas, y se observó 20% más de individuos en las áreas con mayor disponibilidad de alimento. En cambio, cuando la temperatura operativa supera los 37°C, el 85% de los individuos estuvieron en áreas cubiertas, prefiriendo nuevamente áreas con alimento. El patrón de actividad en invierno fue básicamente unimodal. Las áreas descubiertas presentaron alrededor del 70% de los individuos; mientras que aquellas con alimento totalizaron el 55%. Nuestros resultados indican que este roedor enfrenta un compromiso entre evitar ambientes térmicamente estresantes y la obtención de alimento.
L.D. Bacigalupe es becario PUC. Proyecto FONDECYT 1980959

REVISION Y FILOGENIA DE LOS GENEROS DE *Lithinini* DE SUDAMERICA AUSTRAL (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) (Revision and Phylogeny of the Lithinini Genera from Austral South America (Lepidoptera: Geometridae)). Parra, L.E. Depto. de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción. E-mail: luparra@udec.cl. Patrocinio J.C. Ortiz.

La tribu Lithinini (Forbes 1948) está ampliamente distribuida en el mundo. Su diagnosis está sustentada por la combinación de varios caracteres, aunque su diagnosis diferencial parece estar en la presencia de un largo y delgado proceso del anellus. Rindge (1986), separa los géneros de América, artificialmente en dos secciones, una Holártica y otra sudamericana, la que posee una distribución restringida a la zona austral. Los géneros de esta región de Sudamérica se caracterizan por los altos niveles de endemismo que presentan. Esta revisión entrega numerosos cambios taxonómicos, la proposición de un nuevo género y especie, así como una lista sistemática de los taxa válidos. El análisis filogenético se realizó mediante Hennig86 (Farris 1988), encontrándose que todos los géneros, excepto *Catophoenissa*, forman un grupo monofilético sustentado por las siguientes sinapomorfías: (1) ausencia de penachos metatorácicos; (2) ausencia de penachos abdominales; (3) cristae presente; y (4) proceso del anellus no espiniforme. Los 20 géneros australes de Sudamérica muestran la siguiente hipótesis de relaciones:
(*Franciscoia* (gén. nov. (*Proteophramacis* (*Calta* (*Maendragonaria* (*Odontothera* ((*Martindoelloia* (*Callemo*, *Guara*)) (*Laneco* (*Psilaspilates* (*Lacaria*, *Nucara*) (*Euclidiodes* (*Acauro* (*Siopla*, *Duraglia*) (*Yapoma* (*Incalvertia*, *Rinoligia*))))))))))).
Se discuten aspectos de la historia natural y distribución de los distintos géneros, los que se encontrarían asociados al bosque templado y esclerófilo de América austral.
Financiamiento: Dirección de Investigación, Universidad de Concepción (Proyecto 98.113.047-1.1D)

DIVERGENCIA EVOLUTIVA DE LA FLORA VASCULAR ENDEMICA DE JUAN FERNANDEZ (Evolutionary divergency of the endemic vascular flora of Juan Fernandez Islands). Ruiz, E., * González, F., Marticorena, C., Silva, M., Becerra, J. Departamento de Botánica, Facultad Cs. Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. *Departamento de Biología Molecular, Facultad Cs. Biológicas, Universidad de Concepción.

Se estudió la divergencia evolutiva de la flora vascular endémica del Archipiélago Juan Fernández, representada por 18 especies endémicas del archipiélago de los géneros *Berberis* (Berberidaceae), *Coprosma* (Rubiaceae), *Cuminia* (Lamiaceae), *Drimys* (Winteraceae), *Erigeron* (Asteraceae), *Gunnera* (Gunneraceae), *Myrceugenia* (Myrtaceae), *Sophora* (Fabaceae) y *Ugni* (Myrtaceae) y 11 especies relacionadas de Chile continental, usando isoenzimas y ADN nuclear.
Los resultados moleculares se correlacionaron con datos morfológicos para obtener finalmente, una estimación de la divergencia evolutiva de las especies estudiadas.
Se obtuvo resultados isoenzimáticos para 11 especies endémicas de Juan Fernández y 6 de Chile continental. Con los patrones de bandeo, se calculó la identidad genética de Nei entre las especies en estudio y con esto se obtuvieron los dendrogramas respectivos, que representan las relaciones fenéticas entre las especies.
Se secuenció la zona ITS de 9 especies insulares y 8 continentales y se calculó el porcentaje de divergencia entre ellas. No se detectó variación intraespecífica y los porcentajes de divergencia fueron más bajos entre las especies insulares, en comparación a las especies continentales.
Los resultados de la correlación entre caracteres morfológicos y moleculares, apoyan la hipótesis de una reciente especiación con una alta variabilidad morfológica que se contrapone a la baja variabilidad genética existente entre las especies insulares. Se discutirán los resultados obtenidos por género y las relaciones interespecíficas para cada caso.
Agradecimientos: Fondecyt Proyectos 1960822 y 7960015

INCORPORACIONES V

MECANISMOS DE ACTIVACION DE MAPK POR BRADICININA EN CELULAS DE MUSCULO LISO VASCULAR DE RATA. (Mechanisms of MAPK activation by Bradykinin in Vascular Smooth Muscle Cells.). Velarde V*, Ullian ME, Morinelli TA, Mayfield RK, Jaffa AA. Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad de Chile*, Departamento de Medicina, Medical University of South Carolina. Patrocinio: Dr. Enrique Jaimovich.

La proliferación de las células de músculo liso vascular (VSMC) es una característica importante del proceso aterosclerótico que ocurre después del daño endotelial. En este trabajo hemos caracterizado las vías de transducción de señales activadas por la bradicinina (BK)que conducen a la activación de las proteínas kinasas activadas por mitógenos (MAPK) en cultivos primarios de VSMC de rata. La Bradicinina indujo un aumento en la fosforilación en tirosina de varias proteínas celulares, entre ellas la kinasa citoplasmática de adhesión focal (FAK). Adicionalmente, BK indujo la asociación de la proteina adaptadora Grb con la Kinasa citoplasmática Src. El aumento en la fosforilación de las MAPK (ERK 1 y 2) inducido por BK fue inhibido por antagonistas del receptor B2 de cininas, e inhibidores de Src, Proteina Kinasa C y la kinasa de MAPK (MEK) sugiriendo que éstas enzimas participan en las vías de transducción de señales activadas por BK. Los resultados obtenidos sugieren que la activación del receptor de BK induce a varios segundos mensajeros que convergen en la activación de las MAPK. Esta activación constituye una evidencia poderosa para estudiar las acciones mitogénicas de la BK en estados patológicos como la aterosclerosis.
Financiado por JDFI

TRANSLOCACION DE NO SINTASA ENDOTELIAL (eNOS) Y DEPENDENCIA DEL CALCIO EN LA PRODUCCION DE NO INDUCIDA POR FLUJO EN VASOS DE RESISTENCIA INTACTOS. (Translocation of eNOS and calcium dependence on flow-induced NO production in intact resistance vessels). Figueroa, XF., González, DR., Bravo JA. y Boric MP. Depto. Ciencias Fisiológicas, Facultad Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La eNOS está asociada a las caveolas, de donde se libera y activa transitoriamente por agonistas que aumentan el $[Ca^{++}]_i$. Se caracterizó la distribución subcelular de eNOS y la participación del calcio en la producción de NO en respuesta al flujo en la red arterial mesentérica de rata, según este protocolo: 5-min de flujo basal (2mL/min), 10-min de estimulación a 1, 2, 5 o 10 mL/min y 5-min de recuperación (2mL/min). El NO liberado se analizó por quimioluminiscencia y el contenido de eNOS microsomal por inmuno-transferencia. La producción de NO basal (299±23pmol/min, n=16) aumentó proporcionalmente al flujo, en 2 fases: una transitoria inicial y una sostenida. La fase inicial disminuyó al remover el calcio extracelular y desapareció al agregar cafeína, mientras la fase sostenida no varió. El contenido de eNOS microsomal (basal=66%), disminuyó con estímulo 10mL/min (-44% fase inicial, -21% fase sostenida), volviendo al basal en la recuperación. Estos resultados muestran que en arterias de resistencia la eNOS responde a los cambios del flujo y al nivel del flujo. La respuesta transitoria depende de calcio (extracelular y de almacenes intracelulares). La translocación de la eNOS desde la membrana celular corresponde a activación de la enzima.
FONDECYT 2990079 y 1971222

REGIOESPECIFICIDAD DE LA DIOXIGENACION DE POLICLOROBIFENILOS Y SU DEGRADACION POR LA VIA METABOLICA CODIFICADA EN EL LOCUS *bph* DE *Burkholderia* sp. LB400. (Regiospecificity of dioxygenation of polychlorobiphenyls and their degradation by the *bph*-encoded metabolic pathway of *Burkholderia* sp. LB400). Seeger, M. [1], Zielinski, M.[2], Timmis, K.N.[2] y Hofer, B.[2] [1]Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile y [2] Division of Microbiology, Gesellschaft für Biotechnologische Forschung, Braunschweig, Germany. (Patrocinio: Jerez, C.A.)

Burkholderia sp. LB400 is one of the most potent aerobic polychlorobiphenyl (PCB)-degrading microorganisms. Analysis of the dioxygenation products of several PCBs formed by the *bph*-encoded biphenyl dioxygenase revealed a complex dependence of the regiospecificity of dioxygenation on the substitution pattern of both rings. The ability of the enzyme to hydroxylate chlorinated carbons is probably limited to the *ortho* position. However, it is not limited to monochlorinated rings, as evidenced by dioxygenation of the 2,4-disubstituted ring at positions 2 and 3. This site of attack is strikingly different from that of the 2,5-dichlorinated ring, which has been shown to be dihydroxylated at carbons 3 and 4. These results demonstrate that a second substituent of the *ortho*-chlorinated ring crucially influences the site of dioxygenation at this ring and thereby whether or not the initial PCB oxidation product is further metabolized. Formation of more than a single dioxygenation product was found predominantly with congeners that contain two chlorinated rings, both of which are similary prone to dioxygenation or one is substituted only at carbon *meta*.
MS acknowledges generous support by grants from Conicyt-BMBF, DGIP 981301 and 991322 (UTFSM), Fondecyt 1990808 and GBF.

COMUNICACIONES LIBRES

BIOLOGIA MOLECULAR VEGETAL

LA ACTIVACION TRANSCRIPCIONAL DE GENES POR ACIDO SALICILICO ES MEDIADA POR SEÑALES DE ESTRES OXIDATIVO EN TABACO (Transcriptional activation of genes by salicylic acid is mediated by oxidative stress-derived signals in tobacco).

Garretón V., Carpinelli J. y Holuigue L. Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

El ácido salicílico (SA) actúa como señal para la activación transcripcional de genes en la reacción de defensa a patógenos en plantas. Un grupo de estos genes codifica para glutatión *S*-transferasas (GSTs), que participan en protección celular contra daño oxidativo. Nuestro interés es dilucidar el mecanismo por el cual SA activa la transcripción de genes *GST*s. Para ello, utilizamos un elemento *cis* (denominado *as-1*), el cual ha sido identificado como un elemento de respuesta a SA en el promotor de genes *GST*. En este trabajo reportamos la participación de señales de estrés oxidativo en el mecanismo de activación de *as-1* por SA en tabaco. Es así como el tratamiento de hojas con metil viologeno (MV), compuesto que genera estrés oxidativo en tejidos vegetales, aumenta la unión de factores nucleares a *as-1* y la transcripción del gen reportero *as-1/GUS* en plantas transgénicas. Además, detectamos que el tratamiento de hojas con SA produce daño oxidativo en membranas celulares. Consistente con estos resultados, detectamos que la luz potencia el efecto de SA en activar *as-1*. Estos resultados apoyan la hipótesis de que SA generaría estrés oxidativo, y que señales derivadas de este estrés activarían la transcripción de genes controlados por la secuencia *as-1*.

Financiado por los proyectos Fondecyt en Líneas Complementarias (N°8980005) y de doctorado (N° 2980065).

CONSERVACION DE LA SEÑAL DE RETENCION EN APARATO DE GOLGI DE CELULAS ANIMALES Y VEGETALES. (Retention signal conservation in Golgi apparatus of animal and plant cells).

Rojas, P.[‡&], Norambuena, L.[‡], Orellana, A.[‡]. [‡] Laboratorio de Membranas, Departamento de Biologia, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. [&] Centro de Estudios Cientificos de Santiago.

La señal de retención de glicosiltransferasas del Aparato de Golgi de células vegetales se desconoce. En células animales se postula que se encontraría en su único segmento de transmembrana. Evidencias previas muestran que al transformar *Arabidopsis thaliana* con el gen de la sialiltransferasa del *trans*-Golgi de células animales, ésta se localiza en el compartimento homólogo de la célula vegetal. Recientemente se clonó, la primera glicosiltransferasa del aparato de Golgi vegetal, la Xiloglucano α1-2 fucosiltransferasa de *Arabidopsis thaliana* (*Science* 284, 1976-1979). Su perfil de hidrofobicidad la clasifica como una proteina de membrana de tipo II, semejante a otras glicosiltransferasas de animales y levaduras. Al transfectar el gen de la fucosiltransferasa en celulas COS, hemos detectado una actividad Xiloglucano α1-2 fucosiltransferasa que no se obtuvo en células transfectadas sólo con el vector. Al estudiar la localización subcelular de esta proteína en células COS mediante inmunofluorescencia, se observó un patrón de colocalización con Manosidasa II, un marcador de Golgi de células animales. Esto significa que la señal de retención contenida en esta proteína es reconocida por el sistema de retención de mamíferos. Esta evidencia nos indicaría que los mecanismos de retención en el aparato de Golgi serían similares e incluso compartidos entre plantas y mamíferos.

Financiado por FONDECYT 1970494.

SECRECION DE QUITINASA DE *Trichoderma harzianum* EN *E. COLI* MEDIANTE INCORPORACION DE SEÑAL DE SECRECION DE LA PROTEASA B DE *Erwinia chrysantemi* (Secretion of *T. harzianum* chitinase in *E. coli* by gene fusion to secretion signal of *E. chrysanthemi* protease B).

Socías, T, García, V, Gidekel, M*, Venegas, A. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. *INIA-Carillanca.

Se desarrolló un sistema de secreción de proteínas bacteriano para utilizarlo como via de entrega de enzimas útiles para control biológico de fitopatógenos. La quitinasa de *T. harzianum* representa un ejemplo útil para control del hongo *Venturia inaequalis* que afecta al manzano.
El cDNA de quitinasa se amplificó por PCR, se ligó en el vector pSE420 y se detectó expresión mediante PAGE-SDS. A partir de esta construcción se incorporó la señal de secreción de la proteasa B de *Erwinia chrysanthemi*, de 180 aa, obtenida también por PCR. El híbrido se detectó en lisado total de *E. coli* HB101 y en sobrenadante del cultivo al incorporar un segundo plásmido (pRUW4) que lleva los 3 genes necesarios para secreción de proteasa B en *Erwinia*. El híbrido se detectó mediante Western blot con anticuerpo antiproteasa B como una banda de 62 kDa. El rendimiento de secreción no fue óptimo debido a que el híbrido se deposita como cuerpo de inclusión. La secreción se optimizó a un 20% del total, reduciendo la formación de cuerpos de inclusión cultivando la cepa a 25°C.

Financiado por el Fondo de Desarrollo Innovativo proyecto FDI AT-11.

EXPRESION ESPECIFICA DE RETROTRANSPOSONES LTRs EN *Lycopersicon chilense* INDUCIDA POR HERIDAS Y CONGELAMIENTO. (Wounding and freezing induced expression of LTR retrotransposons in *Lycopersicon chilense*).

Ruiz-Lara, S., Bratti, S., Yañez, M., Verdugo, I. y González, E. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Talca-Chile. Patrocinado por : Enrique González

Los retrotransposones LTRs constituyen un grupo de elementos genéticos móviles cuya transposición esta mediada por la transcripción de un mRNA intermediario. La transcripción de dicho mRNA, es controlada por un promotor localizado en su LTR 5'. A pesar que estos elementos transponibles están ampliamente distribuídos en vegetales, sólo unos pocos presentan capacidad de transposición, entre los cuales destaca el elemento Tnt1 de tabaco. La expresión de este elemento es regulada tanto por condiciones internas del huésped como por factores bióticos y abióticos.
Previamente hemos caracterizado cuatro familias de retrotransposones LTR en el genoma de *Lycopersicon chilense*, denominados TLC1, TLC2, TLC3 y TLC4. Estas familias han mostrado ser de expresión específica en flores y también durante la preparación y aislamiento de protoplastos. Aquí presentamos los resultados obtenidos mediante análisis Northern blot y RT-PCR de los RNAs intermediarios, obtenidos del retrotransposón TLC1, cuando las plantas fueron sometidas a estrés por heridas y congelamiento. Así como también, las secuencias putativas del promotor responsables de dicha expresión. Estos resultados, abren la posibilidad de utilizar los LTRs de los retrotransposones del tomate *Lycopersicon chilense* como promotores inducibles de genes fusionados a ellos, en experimentos de transgenosis.

Finaciado por FONDECYT N° 1980387

INHIBICION DE LA EXPRESION GENICA INDUCIDA POR HERIDA DE ALENO OXIDO SINTASA MEDIANTE ARN-ANTISENTIDO EN PLANTAS TRANSGENICAS DE TOMATE.(Inhibition of wound-induced allene oxide synthase gene expression in transgenic tomato plants by antisense-RNA).
Sánchez, C., Ramirez, I., Cárdenas, L., Peña-Cortés, H. Facultad de Ciencias Químicas y Biologicas, Universidad Santiago de Chile (USACH), Santiago.

El ácido jasmónico(JA)es una fitohormona que actúa como molécula reguladora de distintos procesos de transducción de señales en los organismos vegetales que ocurren durante la respuesta a estrés. Frente a condiciones adversas los niveles endógenos de JA aumentan afectando la expresión de una serie de genes que participan en el mecanismo de defensa y en procesos involucrados en el desarrollo y crecimiento del vegetal. Para determinar el rol real *in vivo* que se le ha asignado a esta fitohormona en el metabolismo vegetal, nuestro grupo está interesado en manipular los niveles endógenos de JA. Una de las estrategias utilizadas ha consistido en disminuir los niveles endógenos de JA en plantas transgénicas de tomate mediante la técnica de ARN-antisentido. Para ello, se ha intentado inhibir la expresión génica de la AOS endógena (enzima clave en la biosíntesis de JA), expresando un gen quimérico conteniendo el gen de la aleno óxido sintasa (AOS) de tomate en dirección antisentido bajo el control del promotor 35S en plantas transgénicas. Análisis de diferentes líneas transgénicas obtenidas muestran una reducción de la expresión de AOS frente al daño mecánico. Experimentos preliminares de tissue-printing demuestran un menor contenido de JA en las plantas transgénicas. Análisis de la expresión de otros genes, normalmente inducidos por herida, parece no estar afectada en estas plantas.

TRANSPORTE ACTIVO DE CALCIO EN EL APARATO DE GOLGI DE CÉLULAS DE ARVEJA (Active transport of calcium in the Golgi apparatus of pea cells).
*Ordenes V., #Wolff D. *Universidad de Concepción y #Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La célula vegetal mantiene Ca^{2+} libre citosólico en el rango submicromolar mediante el bombeo del ión desde el citoplasma a reservorios intracelulares o al apoplasto.
La vacuola y el retículo endoplásmico son considerados los reservorios intracelulares de Ca^{2+} más importantes en la célula vegetal. No se sabe si el Aparato de Golgi (AG) vegetal acumula Ca^{2+} aunque su presencia es requerida en procesos bioquímicos que ocurren en el organelo tales como glicosilación de proteínas y síntesis de polisacáridos.
A fin de caracterizar el transporte de Ca^{2+} en este organelo, investigamos la captación activa de Ca^{2+} por vesículas de una fracción de membranas de AG de células de arveja.
Los flujos de Ca^{2+} se determinaron midiendo la acumulación de $^{45}Ca^{2+}$ por las vesículas. Al agregar ATP-Mg al medio, se observó estimulación de la acumulación de Ca^{2+} por las vesículas de AG. Los flujos activos de Ca^{2+} fueron 2,33 ± 0,62 y 5,03 ± 0,34 nmol · mg prot^{-1}min^{-1}, a concentraciones de Ca^{2+} libre de 100 nM y 1 µM en el medio respectivamente. La adición del ionóforo de calcio A23187 indujo la liberación del $^{45}Ca^{2+}$ retenido en las vesículas. Nuestros resultados indican la presencia de un mecanismo de transporte activo de Ca^{2+} en la membrana AG vegetal.
Financimiento: Proyecto FONDECYT 1970467

CLONAMIENTO Y EXPRESION EN LEVADURAS DE GENES DE NUCLEOSIDO DIFOSFATASAS Y TRANSPORTADORES DE NUCLEOTIDOS-AZÚCAR DE APARATO DE GOLGI EN PLANTAS. (Cloning and expression in yeast of nucleoside diphosphatases and nucleotide sugar transporters from Golgi apparatus in plants).
Yuseff, M.I., Vergara, A., Carvajal, M., Orellana, A. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

El aparato de Golgi de células vegetales participa en la síntesis de polisacáridos de la pared celular primaria. Nucleótidos-azúcar son transportados al lumen del organelo donde el azúcar es transferido a un polisacárido naciente y los nucleósido difosfatos liberados son rápidamente hidrolizados por nucleósido difosfatasas de Golgi. Para estudiar la función *in vivo* de transportadores de nucleótidos-azúcar y nucleósido difosfatasas, a partir de *Arabidopsis thaliana* hemos clonado 3 cDNAs: AtNDPase1 y AtNDPase2, homólogos a NDPasas de Golgi, y AtVRG4, homólogo al transportador de GDP-manosa de *Saccharomyces cerevisiae*. Para analizar la función de estos genes usamos las mutantes de levadura sensibles a Higromicina B, *gda-1* que tiene mutado el gen de la GDPasa de Golgi, y *vrg4*, que tiene mutado un transportador de GDP-manosa de Golgi. Cuando se expresó AtNDPase1 y AtNDPase2 en la mutante *gda-1*, ambos corrigieron el defecto de la mutante. Sin embargo, la expresión de AtVRG4 en la mutante *vrg4* no fue capaz de complementarla. La medición de actividad nucleósido difosfatasa en fracciones microsomales de mutantes *gda-1* transformadas, indica que AtNDPase1 y AtNDPase2 presentan actividad UDPasa. La futura caracterización de estos cDNAs de Arabidopsis permitirá determinar su potencial rol en la síntesis de polisacáridos en plantas.
Financiado por FONDECYT 1970494.

ELEMENTOS COMUNES EN LA TRANSDUCCION DE SEÑALES PARA SINTESIS DE FITOALEXINAS Y DE PR EN *Citrus limon* (Common elements in signal transduction for phytoalexin synthesis and PR expression in *Citrus limon*)
Ortega, X., Pérez, L. M. Dep. Bioq. Biol. Mol. Fac. Cs. Quím. Farm., U. De Chile. E-mail: lperez@abello.dic.uchile.cl (Patrocinio: Luz María Pérez)

Las plántulas de limonero desarrollan una respuesta de hipersensibilidad frente a *Alternaria alternata*, caracterizada por: necrosis localizada del tejido afectado, inducción de la vía fenilpropanoide, síntesis de fitoalexinas y expresión de PR. Para este proceso se ha descrito la participación de calcio, de calmodulina, e incrementos en los niveles de IP_3 a los 7 y 20 minutos post-inoculación.
Se utilizaron inhibidores y activadores de sistema de fosfoinositidos en plántulas inoculadas con el hongo, y se analizó la actividad de PAL (espectrofotométrica), síntesis de escoparona (TLC) y expresión de PR (PAGE-nativo). En respuesta a toxina de cólera (en ausencia del hongo), las plántulas indujeron a la PAL, sintetizaron escoparona y expresaron PR en forma similar a lo observado con *A. alternata*. En cambio, neomicina redujo la inducción de PAL, disminuyó la síntesis de fitoalexinas, y no afectó la expresión de PR en respuesta al hongo.
Los resultados sugieren la existencia de elementos comunes y de vías divergentes en el desarrollo de la HR en plántulas de limonero: proteína G participaría en la inducción de PAL, síntesis de fitoalexinas y expresión de PR, mientras que la PLC no participaría en la síntesis de PR.
Financiamiento FONDECYT 2990090 y 1970532; Beca PG/035/98

BIOQUIMICA I

CLONAMIENTO Y CARACTERIZACION DEL cDNA DE LA SUBUNIDAD α DE LA CASEINA QUINASA 2 DE TABACO. (Cloning and characterization of the cDNA for the α subunit of the tobacco casein kinase 2). Salinas P. e Hidalgo P. Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. Patrocinio: Loreto Holuigue.

En nuestro laboratorio hemos reportado la participación de caseína quinasa 2 (CK2) en la vía de transducción de señales mediada por ácido salicílico (SA) en tabaco. Específicamente, el uso de inhibidores de CK2 nos ha permitido detectar una actividad CK2 nuclear en el mecanismo de activación transcripcional del gen de glutatión *S*-transferasa (GSTs) por SA. Los genes *GST* constituyen uno de los grupos de genes activados por SA en la reacción de defensa a patógenos en plantas. Para estudiar el mecanismo de participación de CK2 en esta vía de transducción, hemos clonado el cDNA de la subunidad catalítica α de la CK2 de tabaco. Para ello hemos realizado el "screening" de una genoteca de expresión de cDNAs de tabaco clonados en el fago λgt10, utilizando como sonda un fragmento del cDNA de la αCK2 de *Arabidopsis thaliana*. En este trabajo reportamos la secuencia de este cDNA y su homología con los cDNA de αCK2 de Arabidopsis y maíz. Reportamos además el clonamiento del cDNA de αCK2 de tabaco en un vector para su expresión en *Escherichia coli*.
Financiado por los proyectos Fondecyt en Líneas Complementarias (N°8980005) y de doctorado (N°2980027).

DESARROLLO DE UNA METODOLOGIA PARA LA IDENTIFICACION DE ESPECIES DEL GENERO *Rhagoletis* (Development of a methodology to identify species belonging to *Rhagoletis* genus) Salazar, M., Theoduloz, C., Vega, A., Badilla, R*. Meza-Basso, L. Instituto Biología Vegetal y Biotecnología, Universiadad de Talca y *Servicio Agrícola y Ganadero, VII Región.

Se han descrito 4 especies del género *Rhagoletis* en Chile (*R. nova*, *R. conversa*, *R. penela* y *R. tomatis*). Las especies son, morfológicamente, similares y es frecuente la aparición de individuos que pierden los rasgos morfológicos característicos. Es de interés, establecer una metodología para su identificación inequívoca.
Para diferenciar cada especie se utilizó la técnica de PCR-RFLP. DNA total, de cada especie, fue utilizado como molde para la amplificación de dos fragmentos de DNA mitocondrial de 1000 y 680 pb, utilizando partidores descritos para *Ceratitis capitata* y *R. conversa*, respectivamente. Los fragmentos corresponden a regiones de los genes de la subunidad IV NADH deshidrogenasa y de la citocromo oxidasa II. Cada fragmento fue digerido con una batería de endonucleasas y los perfiles de corte analizados mediante electroforesis.
Se detectó polimorfismos mediante las enzimas *Ssp* I y *Nla* III que diferencian a cada una de las especies. Otras enzimas de restricción generaron perfiles de digestión que permiten discriminar tres de las cuatro especies en estudio. Los fragmentos polimórficos están siendo caracterizados estructuralmente mediante secuenciación.
Se concluye la existencia de regiones polimórficas en los genes de DNA mitocondrial seleccionados que permiten discriminar en forma confiable las especies estudiadas.
Finaciamiento: Fondo Nacional Desarrollo Regional. VII Región.

SOLUBILIZACION DE PROTEINAS DESDE FRUTOS INMADUROS DE *Vitis vinifera*. (Protein solubilization from immature fruits of *Vitis vinifera*). Contreras, P., Gajardo D. y Rojas M.C. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los frutos inmaduros de *Vitis vinifera* no generan proteínas solubles cuando se extraen en presencia de amortiguadores comunes como fosfato de K o Tris-HCl entre pH 7 y 10, condiciones en las que éstas forman complejos insolubles con los taninos endógenos. Se investigó el efecto de agentes atrapadores de fenoles o disruptores de la interacción fenol-proteína sobre la solubilización de proteínas del pericarpio y las semillas de frutos de *Vitis vinifera* variedad Ribier. Borato 0.2M solubilizó proteínas endógenas de los frutos, a valores de pH entre 8.5 y 10.5 en tanto este anión no fue efectivo a pH 7.0, como se espera de la capacidad complejante de su forma desprotonada. Utilizando este amortiguador conteniendo seroalbúmina o peroxidasa agregada como trazador, se recupera un 61% y un 70% de estas proteínas respectivamente, en extractos de pericarpio y la mitad de estos valores en extractos de semillas. Triton X-100 y Tween 20 solubilizaron proteínas endógenas en magnitud similar al borato, en tanto que el polietilen glicol (PEG) 4000 resultó ser significativamente más efectivo que los anteriores agentes. Se describe un amortiguador óptimo para obtener proteínas solubles de frutos inmaduros de *Vitis vinifera* v. Ribier para estudios metabólicos.
Financiado por: FONDECYT 1981073 y Comisión Chilena de Energía Nuclear 40/97.

REACCIONES REDOX EN EL MEDIO EXTRACELULAR DEL HONGO *Ceriporiopsis subvermispora*.(Redox reactions in extracelular medium of *Ceriporiopsis subvermispora* fungus). Bastidas, F., Cortínez, G., Urzúa, U., Vicuña, R. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Departamento Citología Bioquímica y Lípidos, Facultad de Ciencias Biológicas, PUC. Financiamiento FONDECYT 1971239.

Ceriporiopsis subvermispora es un hongo lignolítico que secreta varias enzimas extracelulares, entre las que se encuentran lacasa y manganeso peroxidasa (MnP). MnP puede oxidar algunos ácidos orgánicos en ausencia de peróxido de hidrógeno, aunque con un requerimiento estricto de Mn^{2+}. Cuando el sustrato es el ácido kójico, que es una hidroxipiranona, la reacción se inicia con una fotoxidación que lleva a la producción de intermediarios radicalarios. La reacción es seguida espectrofotométricamente y por HPLC, obteniéndose dos productos.
Por otra parte, el proceso de ligninolisis produce quinonas, las cuales al ser liberadas al medio extracelular resultan tóxicas para el propio hongo. Se ha descrito en otros hongos la presencia de un sistema reductor de quinonas asociado a membrana, además de una enzima extracelular denominada celobiosa deshidrogenasa (CDH). Esta última reduce las quinonas utilizando celobiosa como dador de electrones. Utilizando DCPIP (Di-Cloro-fenol-Indofenol) como sustrato, se ha detectado la existencia de poder reductor unido a micelio de *C. subvermispora*. Esta actividad es solo dependiente del sustrato, tiene un pH óptimo igual a 5.5 y no se ve afectada por la presencia de inhibidores de fenol oxidasas, enzimas que podrían estar interfiriendo en el ensayo. Con respecto a CDH, los resultados obtenidos hasta la fecha no son concluyentes.

El GEN FUNCIONAL PARA LA PROTEINA RIBOSOMAL S14 FUE TRANSFERIDO DESDE LA MITOCONDRIA AL NUCLEO ANTES DE LA DIVERGENCIA DE LAS MONOCOTILEDONEAS TRIGO Y MAIZ (The functional gene encoding ribosomal protein S14 was transferred from the mitochondrion to the nucleus before the divergence of the monocots wheat and maize)

Sandoval, P., Gómez, I. y Jordana, X. Depto Genética Molecular y Microbiología, Fac Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La hipótesis endosimbionte es aceptada para explicar el origen de la mitocondria. Durante la evolución, la mayor parte de la información genética presente en el endosimbionte se perdió o fue transferida al genoma nuclear. El contenido diferencial de genes en el DNA mitocondrial de distintas especies vegetales demuestra que esta transferencia es un proceso aún en curso en plantas.
Varias especies de plantas contienen un gen mitocondrial funcional para la proteína ribosomal S14 (*rps14*). Por el contrario, en mitocondrias de trigo y maíz no se encuentra un gen funcional, lo que hace presumir que en estas especies *rps14* ha sido transferido al núcleo. En este trabajo se ha caracterizado el gen nuclear que codifica para la proteína ribosomal S14 de mitocondrias de trigo. La secuencia transferida desde la mitocondria está integrada en el intrón de un gen que codifica para otra proteína mitocondrial, la subunidad hierro-azufre del complejo II de la cadena respiratoria. Esta organización es similar en maíz, trigo y arroz, de lo que se deduce que la transferencia del gen ocurrió antes de la divergencia de estas monocotiledoneas.
Financiado por Fondecyt 8980005 y ECOS-Conicyt C98B01

¿EXISTEN TRANSPORTADORES FACILITATIVOS DE HEXOSAS EN CLOROPLASTOS? (Are there facilitative hexoses transporters in chloroplasts?).

Otth, C., Weber, H., Rauch, M.C. and Triviño, C. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. (Patrocinio: Ilona I. Concha)

El cloroplasto (plastidio que contiene clorofila) es el organelo de la célula vegetal en el que se realiza uno de los procesos más relevantes del ciclo celular, la fotosíntesis. Los productos de la fotosíntesis son exportados y usados en la formación de sacarosa, la cual es distribuida vía floema hacia los órganos heterotróficos (sink) de la planta (hojas jóvenes, raíces, etc). En estos tejidos la sacarosa sirve como fuente de carbono y energía; para ello debe ser primero escindida por acción de invertasa o sacarosa sintetasa, generando fructosa y glucosa, las cuales son convertidas en hexosas fosfato para luego ser transportadas hacia los amiloplastos, a través del translocador hexosa fosfato-fosfato.
Este estudio presenta evidencias que cloroplastos aislados de *D. Antarctica* Desv. transportan 2-desoxiglucosa y fructosa a favor de un gradiente de concentración, dependiente del tiempo y la concentración., sugiriendo la participación de un sistema de transporte facilitado homólogo al humano (GLUT). Los transportadores homólogos fueron identificados por inmunodetección y fueron localizados en las membranas de los cloroplastos aislados por medio de anticuerpos dirigidos contra las proteínas humanas. La expresión de estos transportadores es regulada además por el frío. Estos hallazgos son inéditos y de gran relevancia, ya que hasta la fecha se acepta que el cloroplasto transporta azúcares como triosas-fosfatos solamente.
(FONDECYT 199-0994).

OXIDASA DEL CARBONO 7 Y 3-HIDROXILASA DE GIBERELINAS EN *Gibberella fujikoroi*. (Gibberellin 7-oxidase and 3-hydroxylase from *Gibberella fujikuroi*).

Urrutia, O., Agüero, P. y Rojas M.C. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La hidroxilación en la posición 13 del esqueleto de las giberelinas y la oxidación del carbono 7 desde aldehido a ácido carboxílico, son reacciones esenciales en la síntesis del ácido giberélico en *Gibberella fujikuroi*. Ocurren sobre el precursor GA_{12} aldehido, como reacciones alternativas, en las etapas finales de la vía que da origen a las giberelinas lactónicas. Hemos caracterizado *in vitro* las oxidasas que catalizan la síntesis de GA_{12} (7-oxidasa) y de GA_{14} (3-hidroxilasa, 7-oxidasa) en un preparado enzimático parcialmente purificado del micelio de *Gibberella fujikuroi*. La síntesis de GA_{14} requiere NADPH y oxígeno molecular, reductor que no puede ser reemplazado por otros nucleótidos de piridina. Esta reacción es activada en un factor de 4 por FAD 5 μM, presentando una cinética de activación hiperbólica en el rango de 0.1 - 5 μM. La síntesis de GA_{12} requiere también NADPH y O_2, pero a diferencia de la reacción anterior, no es activada por FAD 5 μM. En presencia de NADH y O_2 se sintetiza GA_{12} a una menor velocidad, reacción que es estimulada por FAD en el rango de 10-100 μM. Todas las actividades enzimáticas relacionadas con la síntesis de estas giberelinas están localizadas en los microsomas. Se investigó el efecto de varios inhibidores de hemoproteínas y del citocromo P450 sobre estas oxidasas.
Financiado por: FONDECYT 1981073.

IDENTIFICACION Y AISLAMIENTO DE GENES DE EXPRESION FRUTO-ESPECIFICA. (Identification and isolation of fruit-specifically expressed genes).

González, E.; Osorio, D.; Sagredo, C. y Poblete, F. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.

El fruto es el producto de un complejo programa de desarrollo que tiene lugar a nivel del ovario de la planta. Este desarrollo transcurre a través de tres fases diferentes. La fase I, etapa temprana post-fecundación en la que se establece el desarrollo frutal. La fase II, caracterizada por una activa división celular y el crecimiento del fruto. La fase III o maduración, caracterizada por la expansión celular y posterior senescencia del fruto. Cada una de estas etapas está asociada a un programa de expresión génica diferencial de estricta regulación homeótica.
A la fecha, existe poca información respecto del proceso de expresión génica en las etapas tempranas del desarrollo frutal. Por tal razón, hemos enfocado nuestro trabajo hacia la identificación de genes cuya expresión es específicamente inducida post-fecundación en el tejido carpelar. Para este análisis se utilizó la planta dioica *Silene latifolia* por cuanto la polinización puede ser fácilmente sincronizada. La técnica de "differential display" de mRNAs fue empleada para comparar el perfil de transcripción entre carpelos de flores fecundadas y no fecundadas. Ello permitió aislar tres cDNAs específicos de la fase I del desarrollo frutal en esta especie. Secuencias homólogas han sido detectadas en el genoma de *Lycopersicon esculentum*. A partir de la secuencia de los cDNAs obtenidos se ha diseñado partidores específicos, los que han sido empleados para aislar las regiones promotoras de los genes correspondientes mediante la técnica de "single-specific primer" PCR.

ECOLOGIA I

EXPLICANDO EL PATRON ESTACIONAL DE DINAMICA POBLACIONAL DE *Daphnia ambigua* : EVIDENCIAS DE TERRENO Y UN MODELO MATEMATICO SIMPLE (Explaining the seasonal pattern of population dynamics of *Daphnia ambigua* : field evidence and a simple mathematical model). Ramos-Jiliberto, R. Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso e Instituto de Oceanología, Universidad de Valparaíso.

/

Para un periodo de tres años, se estudió el patrón estacional de cambio en densidad de una población de *Daphnia ambigua* Scourfield en un lago eutrófico monomíctico templado (El Plateado, Valparaíso), y su relación con la dinámica temporal y espacial de la temperatura del agua, concentración de oxígeno disuelto y radiación fotosintéticamente activa. La población de *D. ambigua* presenta organismos de vida libre durante Junio-Octubre, con máximos de densidad de 4-14 ind/L en Agosto-Septiembre. La fase de crecimiento de la población está temporalmente asociada a las mínimas temperaturas ambientales, a bajos valores de penetración de la luz y a los máximos valores de concentración de oxígeno disuelto. La hipótesis de disponibilidad de refugio (contra depredadores visuales) ofrece una explicación plausible al patrón poblacional observado. En base a dicha hipótesis, se construyó un modelo matemático simple de tipo logístico-determinista-discreto para la dinámica estacional de *D. ambigua*, que incluye el efecto de la disponibilidad de refugio sobre la densidad de equilibrio de la población y el efecto de la temperatura sobre la tasa de crecimiento *per capita*. El modelo es capaz de predecir el patrón observado de cambio en la densidad poblacional, en base a variables externas estimables en terreno.

ACLIMATACION TERMICA Y PLASTICIDAD METABOLICA EN TRES ESPECIES DE ROEDORES CHILENOS: INERCIA EVOLUTIVA O ADAPTACION LOCAL? (Thermal acclimation and metabolic plasticity in three species of Chilean rodents: evolutionary inertia or habitat adaptation?) Nespolo,R.F., y J.C. Opazo. Depto.de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P.Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D

Los mamíferos no hibernantes que habitan ambientes estacionales cambian su capacidad termogénica independiente de los escalofríos (*non-shivering thermogenesis,* NST) en función de la mantención de la homeotermia. Capacidades metabólicas como estas son consideradas rasgos plásticos adaptativos que pueden ser estudiados utilizando la norma de reacción como herramienta de análisis. Para ello, determinamos la norma de reacción de NST en función de dos temperaturas de aclimatación, (15° y 30°C) en *Octodon degus* y *Phyllotis darwini* del hábitat mediterráneo de Chile central, y en *Phyllotis xanthopygus* del ambiente estacional del altiplano, en el norte de Chile. *O. degus* presentó incremento en NST de un 22% entre temperaturas de aclimatación, *P. xanthopygus* aumentó en un 112% NST y *P. darwini* presentó el máximo aumento en NST, con un 117%. En base a estos resultados, y utilizando a *O.degus* como control, pues comparte el hábitat pero no el origen biogeográfico con *P. darwini*, sugerimos que el parecido en la plasticidad metabólica entre las especies de *Phyllotis* se debe a inercia evolutiva pues a pesar de habitar actualmente ambientes diferentes, ambas conservan adaptaciones al ambiente estacional de altura, que consituye su origen biogeográfico.
Agradecemos a FONDECYT, proyecto 1980959 de F. Bozinovic. RFN y JCO son becarios Conicyt

TASA METABOLICA MAXIMA, BASAL Y TAMAÑO CORPORAL EN POBLACIONES DE *Chroeomys olivaceus*: EFECTO DEL HÁBITAT TERMICO. (Maximum and basal metabolic rate and body weight in *Chroeomys olivaceus*: Thermic habitat effect). Farfán G., Rivera A. y Novoa F.F. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

De acuerdo a la Regla de Bergmann, razas de endotermos de climas fríos tienden a ser mayores en tamaño que aquellas de climas cálidos. Sin embargo, esta ley presenta numerosas excepciones dado que animales de mayores tamaños presentan tasas metabólicas peso específicas menores y en consecuencia, una menor resistencia al frío.
El objetivo de este trabajo es analizar la plasticidad metabólica y morfológica en un gradiente térmico/latitudinal de poblaciones intraespecíficas del roedor *Chroeomys olivaceus*, determinando en individuos del norte, centro y sur de Chile el tamaño corporal y sus capacidades energéticas.
Se capturaron animales en poblaciones latitudinalmente distantes, determinándose el tamaño corporal (Wb), metabolismo máximo (Mmax) a 5°C y metabolismo basal (Mbasal) a 30°C.
Tanto Mmax como Mbasal total fueron mayores en individuos del Sur. Paralelamente, Wb fue mayor en las poblaciones del Centro y del Sur. Dadas estas diferencias, el metabolismo fue estandarizado por $Wb^{-0.25}$ y $Wb^{-0.35}$, respectivamente. En este caso, sólo Mbasal de la población del Sur fue mayor.
En conclusión, la especie *Chroeomys olivaceus* responde a la disminución de la temperatura ambiente de su hábitat, primero con un aumento en el tamaño corporal y luego con un aumento en sus capacidades metabólicas.
Financiado por Proyecto FONDECYT 1980762 a F.F. Novoa.

PATRONES DE ANIDAMIENTO DE ESPECIES EN DOS NIVELES DE ORGANIZACION: LA IMPORTANCIA DEL MODO DE VIDA DEL PARASITO. (The nestedness patterns in two hierarchicals levels: the life-style of parasite importance). Balboa[1], L., George-Nascimento[2], M. & Marquet[1], P. [1]Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile. Casilla 124-D, Santiago. [2]Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica SSMA Concepción. Casilla 297, Concepción, Chile. Patrocinio J. Pulgar.

La evidencia muestra que en varios grupos de organismos las comunidades de especies de baja riqueza tienden a ser un subconjunto de las comunidades más ricas (patrón anidado). Las comunidades de parásitos parecieran ser una excepción. Sin embargo, la mayoría de los antecedentes se ha sesgado a taxa de ectoparásitos y han obviado el hecho de que diversos taxa ocupan distintos órganos o sectores (=hábitat) del huésped. Por esto se analizó el total de taxa, endoparásitos larvales, adultos y ectoparásitos entre 17 especies de peces marinos y en los individuos de 5 especies de huéspedes. Se evaluó la frecuencia de infecciones mixtas, la composición y su relación con el tamaño de cada especie (comunidad componente) o de cada individuo (infracomunidad) huésped. La mayoría de las distribuciones de frecuencia de taxa parásitos se ajustó a un modelo de combinaciones aleatorias. Contrariamente, el patrón de composición se desvió del azar conjuntamente con un aumento de la riqueza taxonómica con la longitud del huésped. Se discute la importancia del tamaño del huésped sobre los patrones de comunidades de parásitos con diferente modo de vida.
Agradecimientos: A Fondap O & BM y Beca DIPUC

EFECTO DE LA GEOMETRIA DE LOS PARCHES DE VEGETACION SOBRE LA DENSIDAD DE TRES ESPECIES DE LEPIDOPTEROS ASOCIADOS A *Brassica oleracea* (Effect of plant patch geometry on the density of three lepidopteran species associated with *Brassica oleracea*). Muriel, S.[1] & A.A. Grez[2]. [1] Fac. Ciencias, Universidad de Chile, [2] Fac. Cs. Veterinarias, Universidad de Chile.

La geometría de los parches de vegetación determina su relación perímetro/área (P/A). A igual tamaño, parches alargados tienen una P/A mayor que parches cuadrados, lo cual puede condicionar la inmigración y abundancia de insectos herbívoros. Aquí evaluamos el efecto de la geometría de parches de *Brassica oleracea* sobre la densidad e inmigración de los lepidópteros especialistas *Pieris brassicae* y *Plutella xylostella* y del generalista *Trichoplusia ni*. Establecimos dos tipos de parches, con relación P/A contrastantes (30 % vs 70 % de las plantas en el borde), usando un diseño en bloques al azar, con cuatro repeticiones. Los lepidópteros fueron contados cada 10 dias en el centro y borde de cada parche, entre diciembre 1997 y abril 1998. La geometría afectó diferencialmente la densidad de los dos especialistas: *P. brassicae* fue más densa en el parche con mayor P/A y *P. xylostella* en el parche con menor P/A. *T. ni* no fue afectada por la geometría. La inmigración de *P. brassicae* fue mayor en los parches con mayor P/A, en cambio, la de *P. xylostella* y *T. ni* no difirió entre parches. El efecto de la geometría del parche depende de la especificidad de los lepidópteros y de procesos demográficos asociados a los estados del ciclo de vida.
FONDECYT 1970853

ENERGETICA Y ASIMILACION DE NUTRIENTES EN EL ZORRO CULPEO (*Pseudalopex culpaeus*). (Energetic and nutrient assimilation in the culpeo fox (*Pseudalopex culpaeus*). Silva, S.I, Pontificia Universidad Católica de Chile

En Chile la determinación de la bioenergética en mamíferos se ha limitado al estudio de pequeños consumidores primarios. Sin embargo, no existen estudios de este tipo en mamíferos carnívoros. En el presente estudio determiné bajo condiciones de cautiverio la energética y asimilación de nutrientes en el zorro culpeo. Cinco individuos fueron sometidos durante 10 días a dietas experimentales compuesta por ratas. La digestibilidad de materia seca fluctúa entre 77 y 82%, mientras que los tiempos de retención promedio variaron entre 29 y 36 horas. El consumo de oxígeno, medido a 20 ^{0}C fluctuó entre 0.3 y 0.5 (mlO_2/gh). En todos los casos se verifico un aumento en promedio de un 10% en masa corporal. Basado en estos datos se calculó que un individuo de 5 kg y con un consumo de oxigeno de 0.5 (mlO_2/gh) necesita un aporte energético diario de 3015 kJ, lo que equivale a una ingesta de energía digerible de 150 g/día de roedor.
Agradezco beca CONICYT de Doctorado y Proyecto FONDECYT 2980022.

VARIABILIDAD TEMPORAL EN EL RECLUTAMIENTO DE TRES ESPECIES DE PECES INTERMAREALES: *Scarthichtys viridis, Girella laevifrons* Y *Graus nigra*. (Temporal variability in the recruitment of three intertidal fish species: *Scarthichtys viridis, Girella laevifrons* y *Graus nigra*) Hernández, C.; J.M. Rojas; F. Labra & F.P. Ojeda. Depto. de Ecología. P. Universidad Católica de Chile. Casilla 114-D.

La variabilidad espacio-temporal en el reclutamiento ha sido considerada como uno de los principales factores estructuradores de los ensambles de peces intermareales. En Chile, la dinámica de reclutamiento de los peces y su potencial efecto sobre los ensambles se desconoce. Si se considera que el reclutamiento puede ser definido como la incorporación de nuevos jóvenes a la población, los reclutas en una poza de marea pueden ser considerados como aquellos individuos de menor talla que se encuentran en la poza. En este estudio, se analizó la variabilidad temporal sobre la estructura de talla de 3 especies comunes de la zona intermareal rocosa de Chile Central (*Scarthichtys viridis, Girella laevifrons y Graus nigra*), por medio de muestreos bimensuales de marcaje-recaptura en 8 pozas de marea en las localidades de Las Cruces, El Tabo e Isla Negra. A cada individuo se le registró largo total y peso. Los resultados señalan una variabilidad estacional en la estructura de talla para las tres especies. Por otra parte, se observa una disminución en el largo total promedio asociada a un incremento en la abundancia total durante el período estival. Se discuten los resultados en relación con la historia de vida de cada especie y a los antecedentes disponibles en literatura para otras especies.
Financiamiento: FONDAP O & BM 3

MORFOMETRIA COMPARADA DE DOS ESPECIES DE MURCIELAGOS CHILENOS Y SU CORRELACION CON LA CONDUCTA DE VUELO (Comparative morphometry of two Chilean bats and its correlation with flight behavior) Iriarte, J., Atala, C., Novoa, F. F., Canals, M. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (E-mail: josdiiri@icaro.dic.uchile.cl)

La morfología alar en murciélagos se puede correlacionar con el hábitat y el tipo de vuelo que realiza. Por ejemplo, murciélagos que habitan en zonas abiertas, presentan vuelo rápido, poca maniobrabilidad y gran envergadura alar. Lo contrario pasa con murciélagos que habitan zonas de vegetación densa. Estas variadas formas de vuelo imponen distintos requerimientos al sistema cardiovascular, respiratorio y esquelético. De esta manera, a partir de diferencias ecológicas es esperable encontrar diferencias morfométricas específicas en variables correlacionadas al vuelo y/o en la alometría cardíaca.
Se determinaron características morfométricas alares (razón de aspecto, carga alar, módulo de sección, momentos de flexión y torsión del húmero) y cardíacas de *Tadarida brasiliensis* (Molossidae), que habita en espacios urbanos abiertos, y *Myotis Chiloensis* (Vespertilionidae), de habita en zonas arbustivas, encontrándose diferencias en envergadura, largo y ancho de húmero, masa corporal y el tamaño relativo del corazón, que justifican diferencias en la razón de aspecto, carga alar, módulo de sección y momentos. *Myotis* presenta momentos de flexión y torsión menores que lo esperado, lo que podría ser explicado por una envergadura alar mayor a la esperada y a una menor potencia inducida de vuelo. *Tadarida* en cambio, aunque también presenta una envergadura mayor tiene menor área alar, características del vuelo rápido y potente.

BIOLOGIA CELULAR I

CONTRIBUCION DE LOS CANALES DE CALCIO ACTIVADOS POR DESPOLARIZACION (VSCC) A LA INDUCCION MESODERMICA DE *Xenopus laevis*. (Contribution of VSCC to mesodermal induction in *Xenopus laevis*.). V. Palma y M. Kukuljan. Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Patrocinio : Miguel Allende.

Existe evidencia de la expresión de canales iónicos activados por despolarización en células embrionarias en estadíos tempranos del desarrollo. Nos interesa la regulación y papel funcional de la expresión de estos canales, por lo que abordamos el estudio de los VSCC en el embrión de *X. laevis*. Hemos identificado los cDNA que codifican dos isoformas de VSCC en *X. laevis*. El análisis mediante RT-PCR e hibridación in situ (ISH) de xα1C muestra su expresión durante la gastrulación, con una señal restringida al mesodermo dorsal, la que aumenta en intensidad y marca el mesoderma somítico durante la neurulación. Se observa un patrón similar para el transcrito que codifica la subunidad xβ_3. El análisis Western confirma la expresión de la proteína xα1C en gástrulas. La sobreexpresión de VSCC heterólogos en el embrión de *X. laevis* origina un fenotipo dorsalizado. La ISH de estos embriones revela la expresion expandida tanto de marcadores neurales y de marcadores mesodermales en gástrulas y neurulas. Los embriones inyectados presentan una reducción del territorio de expresión de marcadores de mesodermo ventral durante la gastrulación. Los resultados son consistentes con la participación de los VSCC en la dorsalización del mesodermo.
Financiado por FONDECYT 2980019 y Fundación G. Puelma (VP).

ACTIVACION BACTERIANA DE LAS CELULAS NK HUMANAS: PARTICIPACION DE PROTEINA QUINASAS. (Bacterial activation of human NK cells: participation of protein kinases). Maldonado, C., Miranda, D., Lira, M., Blanco, L.P. & Puente, J. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Las células NK pueden lisar espontáneamente diversos tipos celulares. Hemos demostrado que la bacteria *Salmonella typhi* Ty2 estimula esta citotoxicidad, desconociéndose los mecanismos implicados. En este trabajo estudiamos el efecto de inhibidores de proteína quinasas sobre la activación bacteriana: genisteína (Gen), bisindolil-maleimida-I (BIM) y wortmanina (WM) inhibidores de proteína tirosina quinasas, proteína quinasa C y fosfatidil-inositol-3-quinasa, respectívamente; e iniciamos el análisis de las proteínas fosforiladas en tirosina. Las células NK se purificaron desde sangre periférica mediante métodos inmunomagnéticos. Se cocultivaron bacterias fijadas, en glutaraldehido, y células NK en presencia y ausencia de los inhibidores: Gen 50-100 µM; BIM 1,0-10,0 µM; WM 50-300 nM. La citotoxicidad de las células NK se determinó mediante el ensayo de liberación de ^{51}Cr, utilizando como células blanco células K-562. Las proteínas fosforiladas en tirosina de las células NK post-activación bacteriana se detectaron mediante "Western blot". De acuerdo a nuestros resultados, la activación bacteriana es inhibida por cada uno de los tres inhibidores utilizados, sugiriendo la participación de estas quinasas en el mecanismo de activación. Hay importantes cambios, inducidos por las bacterias, en el patrón de proteínas fosforiladas en tirosina, especialmente en el rango de 70 - 120 kDa que esperamos caracterizar próximamente.
Proyecto FONDECYT 197-0226

EFECTO DE PROLACTINA EN LA TIROIDITIS EXPERIMENTAL AUTOINMUNE. (Effect of prolactin on experimental autoimmune thyroiditis). Barría,M., Esquivel,P. Instituto de Inmunología, Universidad Austral de Chile.

La tiroiditis autoinmune experimental (TAE) es un modelo de tiroiditis de Hashimoto, enfermedad autoinmune órgano-especifica mediada por células T, que produce una infiltación linfocitaria de la glándula tiroidea y la presencia de autoanticuerpos anti-tiroglobulina (Tg).
El presente trabajo reporta el efecto de Prolactina(PRL) en la TAE, para ello se desarrolló un modelo de transferencia celular, en ratones Rk, los que fueron inmunizados con Tg + LPS, después de 7 días se extrajo el bazo, y se cultivó "in vitro" en presencia de Tg durante 5 días , en este periodo de incubación se añadió PRL, en diferentes tiempos, iniciando el cultivo o en las últimas horas de cultivo. Luego las células fueron cosechadas e inoculadas en recipientes singenéicos, los que fueron en algunos casos nuevamente inmunizados con Tg+LPS. Para finalmente evaluar la respuesta linfoproliferativa Tg-específica mediante incorporación de timidina tritiada , y los niveles de anticuerpos anti-Tg mediante ELISA.
Los resultados obtenidos indican que la administración de células Tg específicas en ratones son capaces de alterar la respuesta celular , reflejado por diferencias en la respuesta linfoproliferativa, incluso cuando se modificó el tiempo de exposición de las células a PRL. Por otra parte, la respuesta humoral también se vió afectada por la incubación con PRL .
Se discute el rol de prolactina en este modelo experimental, la cual estaría actuando en diferentes niveles en el desarrollo y función de los linfocitos.
Proyecto DID-UACH F-98-01

LA EXPRESION DE GENES DE FASE AGUDA TIPO I Y TIPO II ES DIFERENCIALMENTE AFECTADA POR LA EDAD EN RATAS FISHER 344. (Expression of Type I and Type II Acute Phase Genes is Differentially Affected by Age in Fisher 344 Rats). *Gómez C.,*#, Pérez C., Sierra F.,*# Walter R. *ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. #The Lankenau Medical Research Center, Wynnewood, PA, USA. (Patrocinio:Dra. Lisette Leyton)

La respuesta de fase aguda (APR) está alterada en animales viejos al nivel de las vías de transducción de señales ERK y JNK, y de 2) los factores transcripcionales C/EBPβ, C/EBPδ y NK-κB. Para investigar los efectos terminales de estos defectos, hemos medido la expresión de proteínas de fase aguda durante un curso de inducción por LPS en ratas Fisher 344 tanto para genes de fase aguda tipo I como tipo II. En el caso de los genes tipo I, los animales viejos mostraron un marcado retardo en la cinética de inducción de mRNA con respecto a los jóvenes, el cual también se observó en la expresión de proteínas séricas. Para los genes tipo II, tanto jóvenes como viejos mostraron un aumento reproducible en los niveles de mRNA a las 12 horas que se correlacionó con un aumento en la expresión de proteínas séricas.
Nuestros resultados muestran que las diferencias encontradas en la APR de animales viejos al nivel de rutas de transducción de señales están relacionadas con diferencias en la expresión de genes de fase aguda tipo I y tipo II.

TRIPSINA Y QUIMOTRIPSINA INDUCEN DIFERENCIACION POST-LARVAL DEL PLATELMINTO *Mesocestoides corti* "IN VITRO". (Trypsin and Chymotrypsin induce post-larval differentiation in the platyhelminth *Mesocestoides corti* "in vitro"). *Espinoza, I.; #Valim, C.; #Ferreira, H.; #Zaha, A.; *Galanti, N. * I.C.B.M., Fac. de Medicina, U. de Chile, Santiago, Chile. #Centro de Biotecnología, U.F.R.G.S., P.A., Brasil (Patrocinio: Dr. Norbel Galanti)

M. corti es un platelminto parásito perteneciente al género Mesocestoides, clase Céstoda. Tiene como hospederos intermediarios a reptiles y mamíferos y como hospederos definitivos a carnívoros. Presentan una serie de características particulares en cuanto a su desarrollo, del que poco se conoce debido a que son endoparásitos obligados, con ciclos de vida complejos; estos hechos dificultan su manipulación experimental. El objetivo de este trabajo es desarrollar un sistema de cultivo de larvas de *M. corti*, que permita su diferenciación a gusano adulto "in vitro".
Se cultivaron larvas del parásito, obtenidas de la cavidad peritoneal de ratones Balb/c, en medio RPMI 1640 suplementado con suero fetal bovino al 20%. La diferenciación del estado larval a gusano se indujo por incubación con tripsina ($1x10^2$, $1x10^3$, $5x10^3$, $1x10^4$, $1x10^5$ BAEE/ml) o quimotripsina ($1x10^2$, $1x10^3$, $5x10^3$, $1x10^4$, $1x10^5$ ATEE/ml; 1BAEE=225 ATEE).
Nuestros resultados muestran que la tripsina es capaz de inducir diferenciación post-larval de *M. corti* a concentraciones de $1x10^4$ BAEE/ml, mientras que quimotripsina requiere de concentraciones más elevadas ($1x10^5$ ATEE/ml). Esto sugiere que serina-proteasas activan una respuesta celular que lleva a la diferenciación post-larval de Mesocestoides. Adicionalmente, hemos establecido un nuevo modelo de diferenciación "in vitro", que permitirá el estudio sistemático de las poblaciones celulares y genes involucrados en este proceso.
Financiado por NRTPD (SIDA/SAREC) y Fundación Andes-Antorcha-Vita.

LA ADHESION DE LINFOCITOS INDUCE LA EXPRESION DE MOLECULAS MHC CLASE II EN CELULAS ENDOTELIALES. (Lymphocyte adhesion induces MHC Class II expression on endothelial cells). Reyes, L.[1,2], Bono, M.R.[1]. (Patrocinio Mario Rosemblatt). [1] Departamento de Biología. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y [2] Fundación Ciencia para la Vida. Santiago – Chile.

Las células endoteliales de órganos linfoides secundarios controlan la extravasación de los linfocitos hacia el estroma de éstos órganos, donde se inicia la respuesta inmune. En este proceso cumplen un papel fundamental las moléculas de adhesión y sus contrarreceptores. La adhesión inicial induce la expresión de otras moléculas (VCAM-1 e ICAM-1) que promueven la transmigración linfocitaria.
El inicio de la respuesta inmune requiere de la presentación del antígeno a los linfocitos T por medio de las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC). Las células endoteliales expresan moléculas MHC Clase II sólo después de ser inducidas con interferón gamma. Sin embargo, en este trabajo se demuestra que al co-incubar células endoteliales con linfocitos de amígdala se observa un aumento en la expresión de moléculas MHC Clase II además de VCAM-1 e ICAM-1. En cambio, al incubar las mismas células con linfocitos B de sangre periférica se observó solo un aumento en la expresión de moléculas MHC Clase II e ICAM-1. Al incubar las células endoteliales con linfocitos T, ya sea de sangre periférica o JURKATT, no se observa aumento en la expresión de las moléculas MHC Clase II. Estos resultados indican que estas interacciones además de inducir VCAM-1 e ICAM-1 inducen la expresión "diferencial" de moléculas MHC Clase II, lo que ejercería un papel en la iniciación de la respuesta inmune.
(Financiado por FONDECYT 1980208 y 1990569).

PARTICIPACION DE *XSLUG* EN LA DIFERENCIACION MESODERMICA DE *Xenopus*. *Xslug* participates in the mesodermal differentiation in *Xenopus*. Rodrigo M. Young* y Roberto Mayor. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

El programa genético del desarrollo depende de la acción coordinada de factores de transcripción.
Xslug es un factor de transcripción tipo dedo de cinc que se expresa en el mesodermo dorsal y las crestas neurales de *Xenopus*. Para averiguar cual es la función de *Xslug* en estos tejidos se generaron dos proteínas quiméricas que contienen solo la región putativa de unión a DNA de *Xslug* unido a un dominio de activación ($Xslug^{vp16}$) de la transcripción y en el otro caso a un dominio de represión ($Xslug^{en}$), ambos previamente caracterizados.
La sobreexpresión de *Xslug* nativo y $Xslug^{en}$ en el mesodermo provoca la inhibición de genes del mesodermo ventral y expresión ectopica de genes específicos del mesodermo dorsal. Mientras que la de $Xslug^{vp16}$ produce el efecto opuesto. Esto sugiere que *Xslug* actúa como un represor de la transcripción.
La expresión de genes del mesodermo dorsal requiere de la inhibición de las vías de BMP (Tgfβ) y wint; las que están activas en el mesodermo ventral. Estudios en que se afecto la actividad de *Xslug* junto con BMP y wint, muestran que la función de *Xslug* depende de la vía de BMP. Nuestros datos muestran que *Xslug* es un represor de algún factor que a su vez reprime el desarrollo del mesodermo dorsal, probablemente a través de la vía de los BMP.
(Fondecyt 1990570)
*Becario Conicyt

ANALISIS MOLECULAR DE LA ESPECIFICACION DEL CEREBELO EN *Xenopus laevis*. (Molecular analysis of cerebellar specification in *Xenopus laevis*.) *A. Glavic. Patrocinado por Roberto Mayor. Laboratorio de Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias, U. de Chile.

El sistema nervioso se origina a partir del tubo neural, el que se subdivide en distintas regiones durante el desarrollo. Nuestro objetivo es analizar la inducción y posicionamiento, de la región precursora del cerebelo en embriones de *X.laevis*, para esto contamos con genes que se expresan en dicha región y son necesarios para la correcta especificación del cerebelo, entre ellos se encuentran los factores de transcripción: *engrailed, Gbx-2, Otx-2* y *Xiro* y el factor de crecimiento fgf8. Hemos definido, mediante el uso de proteínas de fusión, que *Xiro* es un represor de la transcripción y que al ser sobreexpresado modifica el patrón de *Gbx-2, Otx-2 y engrailed*. Del mismo modo la sobreexpresión *de Otx-2 y Gbx-2* alteran el patrón de engrailed. En el proceso de especificación del cerebelo participarían morfógenos generados en la región posterior del embrión, los que restringirían el territorio de expresión de *Otx*-2, gen fundamental para el desarrollo de estructuras anteriores (tele y diencéfalo). Además inducirían la expresión de *Xiro* (y por ende *Gbx*-2). Así se generaría un arreglo espacial de factores de transcripción que permitirían la inducción y correcto posicionamiento del cerebelo en vertebrados.
Financiado por Fondecyt: 2990122.
*Becario Fundación Andes.

BIOQUIMICA V

IDENTIFICACION DEL SITIO DE UNION DEL HIBRIDO RNA/DNA DE RNASA H DE HIV-1.(Identification of the RNA/DNA hybrid binding site of HIV-1 RNase H). Guaitiao J.P., Pinar, B., Roth, M. y León O. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

La transcriptasa inversa del HIV-1 cataliza la síntesis de DNA de doble hebra a partir del RNA genómico de este retrovirus. Esta enzima es un heterodímero constituido por las subunidades p51 y p66. La región C-terminal de la subunidad p66 contiene el dominio RNasa H, encargada de la remoción del tRNA cebador. Estudios preliminares de esta reacción han demostrado que la región comprendida entre los nucleótidos 1 y 6 del extremo aceptor del tRNA utilizado como primer, son necesarias para el reconocimiento específico del sitio de corte. Sin embargo, no se ha determinado las regiones aminoácidicas que se encuentran involucradas en el reconocimiento del sustrato.
En este trabajo se usaron métodos de entrecruzamiento químico para obtener este tipo de información. Para ello se incorporó la base modificada c2dT, que contiene un grupo amino primario,que aparea con la riboadenosina involucrada en el primer sitio de corte en la hebra de DNA del híbrido RNA/DNA. Se unió disuccinimidil glutarato(DSG) a la base c2dT y este derivado se utilizó en entrecruzamiento.
El sustrato modificado, en presencia de Mn^{++}, reacciona con el dominio RNasa H produciendo un complejo equimolar. Respecto al ión Mn^{++}, el perfil de entrecruzamiento es muy similar al de actividad.
Actualmente se trabaja en el aislamiento y secuenciación de los peptidos entrecruzados.
Financiado por proyecto Fondecyt 1980982

LA MUTACION DE GENES CON SECUENCIAS DE INSERCION INVOLUCRA FUNCIONALMENTE A LA PROTEINA RESB Y UN CITOCROMO C_1 EN LA OXIDACION DE HIERRO EN *Thiobacillus ferrooxidans*. (Insertion sequence knockout of gene function implicates ResB and a cytochrome c1 in iron oxidation in *Thiobacillus ferrooxidans*)
Levicán, G[1].; Jedlicki, E[1].; Guacucano, M.[2]; Varela, P.[1]; Inostroza, C[2]. y Holmes, D[2]. [1]Universidad de Chile. [2] Universidad de Santiago de Chile. Proyecto Fondecyt 1980665.

Una de las características más inusuales de *T. ferrooxidans* es su capacidad de utilizar electrones derivados de la oxidación de FeII en la formación de NADH, esto implica que los electrones deben viajar "uphill" en contra de la gradiente termodinámica desde el FeII al NAD+. *T. ferrooxidans* vive a pH 2, pero mantiene un pH neutro en el citoplasma, generando una fuerza protón motriz alta a través de la membrana interna (FPM). Se ha sugerido que esta FPM constituye la fuente de energía requerida para bombear electrones "uphill", pero no existen evidencias experimentales directas que demuestren esta hipótesis.
Nosotros hemos obtenido y caracterizado una mutante para la oxidación de hierro de *T. ferrooxidans* en la cual la secuencia de inserción ISTf1 se ha insertado en el gen resB. ResB es una proteína de membrana interna implicada en la maduración del citocromo tipo-c. Su función es participar en la adición del grupo al citocromo. El análisis de secuencia del DNA genómico adyacente a resB, ha revelado la presencia de genes que posiblemente codifican para la proteína ResC, también implicada en la maduración de citocromos, y las proteínas del complejo bc_1, como un citocromo b, un citocromo c_1 y una proteína rieske.
Nuestro modelo de trabajo es que el citocromo c_1 y probablemente las otras proteínas del complejo bc_1 están involucradas en el flujo "uphill" de electrones en *T. ferrooxidans*.

PECULIARIDADES DE LAS TIROSIL Y TRIPTOFANIL TRNA SINTETASAS DE *Thiobacillus ferrooxidans*. (Peculiarities of tyrosyl and tryptophanyl tRNA synthetases from *T. ferrooxidans*). O. Orellana, J. Salazar, R. Zúñiga, C. Lefimil. Programa de Biología Celular y Molecular. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

A partir de estudios filogenéticos y estructurales, se ha postulado que las tirosil y triptofanil tRNA sintetasas (TyrRS(Z) y TrpRS respectivamente) son enzimas que derivan de un ancestro común y que su divergencia ocurrió en un tiempo evolutivo relativamente reciente.
Del trabajo previo de nuestro laboratorio y de la información proveniente del proyecto de secuenciación del genoma de *T. ferrooxidans* se han obtenido las secuencias del DNA y hemos predicho las estructuras de las enzimas TyrRS y TrpRS. Mediante comparaciones de las estructuras primarias hemos postulado la existencia de al menos dos familias de tirosil tRNA sintetasas de origen bacteriano (TyrRS, TyrRZ). La forma TyrRZ está presente en una amplia variedad de microorganismos incluyendo los primitivos *T. maritima* y *A. aeolicus*. Por mutagénesis sitio dirigida y análisis funcional de las proteínas mutantes hemos observado que varios de los aminoácidos que, se conocía previamente, participaban en funciones catalíticas o de unión de sustratos, se encuentran conservados entre estas dos familias de enzimas. Me diante este análisis hemos podido identificar dos nuevos aminoácidos conservados, la H306 y la S356, que son fundamentales para la funcionalidad de la enzima.
A partir de la secuencia del gen de la TrpRS se amplificó el DNA, se clonó y se sobreexpresó la proteína. La secuencia predicha de la proteína presenta una inserción de alrededor de setenta aminoácidos, comparada con la mayoría de las TrpRS, que también esta presente en la arquea *A. fulgidus*.
Comparaciones de las secuencias de las TyrRZ y TrpRS de *T. ferrooxidans* hacen suponer que estas enzimas están evolutivamente relacionadas.
Financiado por Fondecyt y U. De Chile

CARACTERISTICAS DE MUTANTES DE LA SUBUNIDAD α DE LA PROTEINA QUINASA CK2. (Properties of α subunit mutants of protein kinase CK2) Jacob, G., Neckelman, G., Jiménez, M., Tapia, J., Connelly, C. y Allende, J.E. Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La proteínaquinasa CK2 es una enzima presente en todas las células eucarióticas, involucrada en el control del ciclo celular. Posee subunidades α y α' (catalíticas) y β (reguladora), formando heterotetrámeros $\alpha_2\beta_2$, $\alpha\alpha'\beta_2$ y $\alpha'_2\beta_2$. En el estudio de la relación estructura:función de esta enzima, hemos estado interesados en dos aspectos fundamentales: dilucidar las bases moleculares de la habilidad de la CK2 para utilizar ATP y GTP como sustratos (la mayoría de las proteínaquinasas sólo utilizan ATP) y definir los rasgos estructurales que determinan la interacción entre las subunidades. Estudios previos de este laboratorio, utilizando holoenzimas reconstituidas a partir de mutantes de α en la región $N^{117}N^{118}T^{119}D^{120}$, similar a la secuencia NKXD que participa en el reconocimiento de la guanina en las GTPasas, sugieren que el residuo N^{118} estaría involucrado en el reconocimiento de dicha base. En este trabajo se analizó el efecto de ITP y XTP (análogos de GTP y ATP) sobre la actividad de la $\alpha_2^{118\Delta N}\beta_2$, encontrándose que esta mutante es menos sensible a la inhibición que la $\alpha_2^{wt}\beta_2$, utilizando [γ ^{32}P]GTP como sustrato. También la mutante es menos sensible a la competencia por GTP no radiactivo, usando [γ ^{32}P]ATP como sustrato. Con respecto al segundo punto, hemos producido mutantes de α truncas en su carboxilo terminal: Δ315, Δ323 y Δ332 (la subunidad α silvestre tiene 391 aminoácidos).
La mutante Δ332 es activa y se estimula normalmente con la subunidad β. Δ323 es activa,
pero no es estimulada por β, mientras que la Δ315 es inactiva.
(Apoyado por FONDECYT, ICGEB y The Council for Tobacco Research)

ESTRUCTURA DE UNA ENZIMA CON ACTIVIDAD NUCLEOLITICA Y DE TRANSLOCACION DE DNA. ESTUDIOS PRELIMINARES. (Structure of an enzyme with nucleolytic activity and DNA translocation). Araya P., Murialdo, H. (Patrocinio P. Valenzuela). Fundación Ciencia para la Vida. Santiago- Chile.

La terminasa del bacteriófago λ es una enzima con múltiples actividades; ATPásica, nucleolítica y helicasa. La función primaria es el corte y empaquetamiento del DNA en la cápside. Esta enzima consta de dos subunidades, gpNu1 de 20,4 KDa y gpA de 72,2 KDa. Aunque se conoce la estructura cristalográfica de algunas nucleasas y de enzimas que translocan DNA, se desconoce la de esta enzima con las dos actividades. Con el objetivo de dilucidar la relación entre las diferentes funciones de la enzima y su estructura proponemos la cristalización de dominios discretos. Se determinaron las condiciones óptimas de expresión de los genes de la enzima y sus subunidades en *E. coli*. La subunidad mayor de la proteína contiene una etiqueta de histidina en la porción C-terminal, lo que permite su purificación mediante resinas de afinidad metálica. Debido a que la terminasa pierde su actividad nucleolítica en las fracciones puras, la purificación se ha seguido por análisis electroforético. La terminasa y las subunidades gpNu1 y gpA se han logrado purificar en un 90%, lo que permite usarlas en el estudio de mapeo proteolítico. La digestión de la terminasa con quimiotripsina genera cinco fragmentos discretos provenientes de ambas subunidades. La digestión parcial de gpNu1 genera varios fragmentos, de 15 KDa hasta 9 KDa. A futuro se contempla identificar estos fragmentos, construir y expresar sus genes en microorganismos, y así producir cantidades adecuadas para intentar su cristalización.
(Financiado por Fondecyt 1980209)

MUTAGENESIS EN EL SWITCH IV DEL DOMINIO HELICOIDAL DE LA GαS HUMANA REDUCE LA VELOCIDAD DE INTERCAMBIO GDP/GTP. (Mutagenesis in the switch IV of the helical domain of the human Gαs reduces its GDP/GTP exchange rate). Hinrichs, M.V.*; Echeverría, V.*; Torrejón, M.*; Martínez, J.*; Toro, M.J.[§]; Olate, J.* [§]Dpto. Bioquim. y Biol. Mol. Fac. Med. U. Alcalá de Henares, España. *Dpto.Biol. Mol., Fac. Cienc. Biol., Universidad de Concepción.

Las proteínas G son heterotrímeros compuestos por una subunidad Gα y un dímero Gβγ las cuales transducen señales desde el medio externo al medio interno de la célula, acoplándose a receptores de membrana y regulando de esta forma distintos sistemas efectores. Las subunidades Gα están compuestas por un dominio GTPásico (DRas) que posee la actividad hidrolítica de GTP y un dominio helicoidal (DH) formado por seis α hélices. El intercambio de GDP por GTP en la subunidad α, provoca un cambio conformacional en cuatro regiones de esta proteína llamados switch I, II, III y IV, que induce la disociación del heterotrímero en Gα–GTP y Gβγ. Los switch I, II y III se encuentran ubicados en el DRas cercanos al sitio de unión del nucleótido, en cambio el switch IV se encuentra en el DH y su secuencia aminoacídica presenta un alto grado de divergencia entre las distintas subunidades Gα. Mediante la construcción de quimeras entre la Gαs humana y de *Xenopus laevis* (que presenta un 92% de identidad con la proteína Gαs humana, sin embargo es incapaz de estimular a la adenilil ciclasa), hemos identificado una región del DH que comprende a las hélices αB, αC y αD y al switch IV, responsable de la diferencia funcional entre ambas proteínas. Con el objeto de identificar los aminoácidos que estaban causando esta diferencia, se construyeron dos proteínas Gαs humana mutantes, a las cuales se les cambió 4 y 5 aminoácidos de la región switch IV que presentaban diferencias no conservativas con la proteína de *Xenopus*. Las mutantes M15 (Gαsh : S133N, M135P. P138K, P143S) y M17 (Gαsh : S133N, M135P, V137Y. P138K, P143S) fueron expresadas en bacteria, purificadas y caracterizadas funcionalmente. M15 y M17 presentaron una cinética de disociación de GDP, unión de GTPγS e hidrólisis de GTP dos y siete veces menor que la Gαs silvestre, respectivamente.
Financiado por Fondecyt 1971115 y 2970061

ANALISIS GENETICO Y EXPRESION DE TRES ENZIMAS DEL SISTEMA XILANOLITICO DE *Penicillium purpurogenum*. (Genetic analysis and expression of three enzymes of the xylanolytic system from *Penicillium purpurogenum*).

Chávez, R., Schachter, K., Peirano, A., Bull, P. y Eyzaguirre, J. Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

El xilano es una molécula altamente heterogénea que requiere múltiples actividades enzimáticas coordinadas para su degradación. Hemos usado como modelo al hongo *P. purpurogenum*, purificando varias enzimas xilanolíticas y caracterizando algunos de sus cDNA. En esta oportunidad, se confeccionó el mapa de restricción de los genes de endoxilanasa A, endoxilanasa B y acetil xilano esterasa II (Axe II) y se analizó su expresión. Los experimentos de Southern y Northern blot se realizaron en condiciones de alta estrictez, usando sondas específicas marcadas con ^{32}P. Los resultados de mapa físico indican que los genes de endoxilanasa B y Axe II estarían contenidos en fragmentos comunes mínimos Xho I de 2,2 kpb y Xmn I de 1,8 kpb. Los genes no se expresan en glucosa ni fructosa, pero sí en xilano como única fuente de carbono. Hay expresión de endoxilanasa B y Axe II, pero no de endoxilanasa A después de 24 horas de cultivo. Nuestros resultados sugieren que los genes de endoxilanasa B y Axe II, pero no el de endoxilanasa A, se encuentran en proximidad física y que la expresión de estas enzimas xilanolíticas depende de la fuente de carbono utilizada.

Financiamiento: DIPUC y FONDECYT N° 2990078 y 1990147.

CLONAMIENTO MOLECULAR DEL RECEPTOR V1a DE [8-LISINA] VASOPRESINA (LVP) DE HIGADO DE CERDO. (Molecular cloning of the V1 a [8-lysine] vasopressin receptor from pig liver.

Jipoulou F., Navarro, J. y González, C.B. Department of Physiology and Biophysics, University of Texas Medical Branch, Galveston Texas, e Instituto de Fisiología Universidad Austral de Chile.

LVP es la hormona antidiurética en familias del suborden suiformes. A fin de elucidar las bases de la selectividad ligando-agonista aislamos el cDNA que codifica para el receptor Vla de LVP. Un cDNA de 1.3 kb fue aislado por PCR usando partidores de las regiones conservadas de los receptores Vla y como templado una genoteca de cDNA de hígado de cerdo. Este cDNA codifica una proteína de 424 aminoácidos con masa molecular de 47.642. El receptor Vla de LVP mostró 98.6 % de identidad al Vla de arginina vasopresina (AVP) de rata y 82.3 % de humano. Estudios de modelaje molecular y mutagénesis han sugerido que la Arg8 de la hormona interactua con la TyrllS del receptor y que este residuo juega un rol en determinar la selectividad al agonista. Sin embargo, en el cerdo la posición Arg8 de la hormona es reemplazada por lisina y LVP exhibe una alta afinidad por su receptor. Es probable que las dos substituciones encontradas en los dominios extracelulares provean puntos adicionales de interacción de este receptor con LVP. El segundo dominio intracelular de receptores VI se ha mostrado que interactua con las proteínas G. En este dominio el receptor de cerdo exhibe dos sustituciones en los sitios correspondientes de los receptores Vla de rata y humano.

Financiado por DIUACH y Fondecyt 8980002.

FARMACOLOGIA I

ESTUDIO DE INTERACCIONES FARMACOCINETICAS ENTRE CLONIXINATO DE LISINA Y CICLOBENZAPRINA EN VOLUNTARIOS SANOS. (Study of pharmacokinetic interactions between lysine clonixinate and cyclobenzaprine in healthy volunteers).

Gaete L.[1], Saavedra M.[2], Bentjerodt O. y Saavedra I[1]. (1) Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM y (2) Escuela de Postgrado, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El analgésico clonixinato de lisina (CL) y el relajante muscular ciclobenzaprina (CBp) son recomendados en ingesta conjunta. Sin embargo, se desconoce posibles interacciones (sinergia o inhibición) entre ellos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar farmacocinéticamente ambas drogas después de administrarlas en dosis única (375 mg CL o 30 mg CBp) a 12 voluntarios sanos (22 ± 2 años, 76 ± 6 kg, 172 ± 6 cm estatura) y su comparación con la administración de ambos principios en un mismo comprimido (15 mg de CBp más 375 mg CL). Se extrajeron muestras de sangre seriadas y se determinó las concentraciones plasmáticas de las drogas mediante HPLC con estándares internos. Los parámetros Cmax y tmax se obtuvieron por inspección directa de la curva concentración plasmática / tiempo. Otros parámetros (t _, ABC) se determinaron mediante el programa de Ritschel. Se utilizó el test de ANOVA (IC 95%), para establecer posibles diferencias en el comportamiento farmacocinético de las drogas. Los resultados mostraron variaciones inferiores al 5% en los parámetros analizados para los diferentes tratamientos. Estas diferencias son estadísticamente no significativas para este tipo de asociaciones, lo que refleja ausencia de interacciones entre estos fármacos.

Financiamiento: Pharma Investi de Chile SA.

BIOEQUIVALENCIA DE UNA FORMULACION NACIONAL DE CLARITROMICINA RESPECTO DEL PRODUCTO INNOVADOR. (Bioequivalence Study on one national clarithromycin formulations versus innovator product).

Saavedra, I.; Gaete, L.; López, A.; Oksenberg, D.; Manterola, JL. y Saavedra M. Laboratorio de Farmacocinética, Programa de Farmacología Molecular y Clínica. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

Se presenta los resultados obtenidos de un estudio de bioequivalencia de dos preparados de Claritromicina (Cl), PreClar® (Producto A) y el innovador del Mercado Nacional, Claricid® (Producto B), realizado en doce hombres jóvenes (rango de edad 19 - 23 años), voluntarios sanos (rango de peso 53 – 77 Kg.), en dos períodos, a doble ciego y ramdomizado. Las determinaciones de Cl en plasma se efectuaron empleando un método microbiológico que mide los halos de inhibición del crecimiento del Micrococus luteus, ATCC 9341. El análisis farmacocinético de las curvas de niveles plasmáticos versus el tiempo pos dosis entregó los siguientes resultados: $C_{máx.}$ 1,31±0,35 y 1,46±0,36 mg/mL; $t_{máx.}$ 1,58±0,67 y 1,50±0,52 hrs. t 3,93±1,21 y 4,39±2,71 hrs., $(ABC)_{0Æ}$. 9,163±1,768 y 10,720±2,529 mg/mL/hr y $(ABC)_{0Æ12hrs.}$ 8,007±1,719 y 8,995±1,629 mg/mL/hr para A y B, respectivamente. El análisis estadístico ANOVA multifactorial ($p<0,05$), reveló que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros farmacocinéticos obtenidos de ambas formulaciones y en conclusión, los productos farmacéuticos son bioequivalentes.

EFECTO DE NITRODERIVADOS DEL MEGAZOL, NIFURTIMOX Y BENZNIDAZOL SOBRE EPIMASTIGOTES DE *Trypanosoma cruzi*. (Effect of megazole, nifurtimox and benznidazole nitroderivatives upon epimastigotes of *Trypanosoma cruzi*).

Maya, J[1], Morello, A[1], Repetto, Y[1], Tellez, R[1], Rodríguez, A[1], Nuñez-Vergara L[2], Squella J[2], Bontá M[2], Bollo S[2]. [1]Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Casilla 70086 Santiago 7. [2]Laboratorio de Bioelectroquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Casilla 233, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Debido a lo inadecuado del tratamiento de la enfermedad de Chagas con nifurtimox y benznidazol, se han probado cientos de compuestos como agentes antichagásicos sin mucho éxito. El megazol es prometedor en este campo y su mecanismo de acción puede ser similar al de nifurtimox o benznidazol. Se evalúa el efecto de nitroderivados de 5-nitroimidazol (megazol) sobre el crecimiento de epimastigotes de *T. cruzi* y la correlación con la capacidad de producir reciclaje redox y los potenciales de oxidación, comparándolos con derivados de nitrofurano (nifurtimox) y 2-nitroimidazol (benznidazol). El inhibidor más potente del crecimiento es el megazol (IC_{50} 3,4 μM); el nifurtimox y el benznidazol tienen potencia intermedia (IC_{50} 10,2 y 12,6 μM, respectivamente) y alrededor de ellos, se ubican los otros compuestos analizados. Igualmente, se aprecia una correlación inversa entre el potencial pico de oxidación y la potencia tripanocida. Además, se demuestra reciclaje redox de los nitrofuranos. Los nitroimidazoles, aunque inhiben el consumo de oxígeno, no producen reciclaje redox, sugiriendo que su acción es diferente al del nifurtimox. Financiado por CIDA-SAREC y DID-U. Chile.

TERAPIA GENICA DE ALCOHOLISMO: DETERMINACION DE ACTIVIDAD DESHIDROGENASA ALDEHIDICA-2 USANDO ^{14}C-ETANOL (Gene therapy of alcoholism: Determination of aldehyde dehydrogenase-2 activity using ^{14}C-Ethanol).

Moncada, C., Torres, V., Fuentes, N. Laboratorio Farmacoterapia Génica, Departamento Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La deshidrogenasa aldehídica cataliza la oxidación de acetaldehído a acetato. La isoforma 2 (ALDH2) mitocondrial posee una alta afinidad por su sustrato (K_M 1μM). Su inhibición produce una acumulación de acetaldehído y una aversión a beber en exceso.
Una posible terapia del alcoholismo sería inhibir la expresión génica de esta enzima usando oligonucleótidos para formar (i) antisentidos o (ii) una hebra triple de DNA. Para evaluar la eficacia de estos compuestos hemos desarrollado un método para cuantificar en forma específica y sensible la actividad de la ALDH2 mitocondrial. Nuestro método se basa en la medición de ^{14}C-acetato formado al agregar ^{14}C-etanol al medio.
Presentamos los resultados obtenidos para la actividad de la ALDH2 mitocondrial en células H4IIEC3, manteniendo una concentración constante de acetaldehído de 3μM, suficiente para activar exclusivamente la ALDH2. El ^{14}C-acetato formado es recuperado usando columnas de intercambio aniónico separándolo así de otros metabolitos radioactivos.
Nuestros resultados indican que la actividad de la ALDH2 disminuye un 80% en células preincubadas con cianamida 200μM, un inhibidor no competitivo de la ALDH. En suma, este método resulta específico para determinar la actividad de ALDH2 mitocondrial y lo suficientemente sensible para evaluar la inhibición producida por antisentidos y triple hélices.
Fondecyt 1981047; Cátedra Presidente de la República 1997 Dr. Yedy Israel.

LA DESHIDROGENASA ALDEHIDICA MITOCONDRIAL COMO BLANCO PARA TERAPIA GENICA DEL ALCOHOLISMO: CLONAMIENTO Y SECUENCIACION DEL GEN DE RATA LEWIS. (Mitochodrial aldehyde dehydrogenase as target for gene therapy: cloning and sequencing of the Lewis rat gene.)

Sapag A, Urra S , Moncada C, Israel Y. Laboratorio de Farmacoterapia Génica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La deshidrogenasa aldehídica mitocondrial (ALDH2) metaboliza el acetaldehído, producto del etanol, en acetato. La inactividad de la ALDH2 por falla genética resulta en una acumulación de acetaldehído cuyos efectos sintomáticos producen aversión al alcohol protegiendo así a los individuos portadores de la mutación contra el alcoholismo.
Nuestra estrategia para el tratamiento del alcoholismo mediante terapia génica es emular el efecto de una ALDH2 inactiva por (a) inhabilitación del transcrito mediada por oligonucleótidos fosforotioatos de antisentido y (b) impidiendo la formación del transcrito con oligonucleótidos formadores de triple hélice.
Hemos clonado y secuenciado el gen de la ALDH2 de rata Lewis por PCR a partir de DNA genómico. Se usó la secuencia del cDNA de rata Sprague-Dawley para diseñar partidores de amplificación específicos. El gen tiene un tamaño de ~14 kb y está organizado en 12 exones (~80-300 pb) y 11 intrones (~380-2000 pb). Se presenta una comparación de la estructura génica con la de los genes para ALDH3 de rata y ALDH2 humana.
Los oligonucleótidos fosforotioatos diseñados para interferir con la expresión del gen *ALDH2*, se ensayarán en cultivo celular y en animales.
(Cátedra Presidente de la República 1997 (YI), Proyecto FONDECYT 1981047-98.)

EFECTO GASTROPROTECTOR DE SOLIDAGENONA Y ACIDO OLEANOLICO EN ULCERAS GASTRICAS INDUCIDAS POR ETANOL Y ASPIRINA EN RATAS. (Gastroprotective effect of solidagenone and oleanolic acid on gastric ulcers induced by ethanol and aspirin in rats).

Rodríguez, J. A.; Yáñez, T. M.; Bustamante, C.; Loyola, J.; Astudillo, L.; Schmeda-Hirschmann, G. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología e Instituto de Química de Recursos Naturales, Universidad de Talca, Talca. Patrocinio: Elizabeth Hubert Z.

Solidagenona y ácido oleanólico son terpenos de origen vegetal. El primero se encuentra en plantas del género *Solidago*, mientras que el segundo posee una amplia distribución. En los últimos años, se han descrito diferentes terpenos de origen vegetal que poseen actividad antiulcerogénica. Se estudió la actividad gastroprotectora de solidagenona y ácido oleanólico, en los modelos experimentales de úlcera gástrica inducida por etanol y por aspirina, en ratas macho Sprague-Dawley. Solidagenona y ácido oleanólico fueron emulsionados en solución 12 % Tween 80 y administrados oralmente, una hora antes de la inducción de las lesiones gástricas, en dosis de 50, 100 y 200 mg/kg. Como control, se usó grupos de ratas tratadas con 12 % Tween 80 y, como control positivo, animales tratados con omeprazol 20 mg/kg (etanol) y ranitidina 50 mg/kg (aspirina). En los dos modelos de úlcera, las tres dosis de solidagenona y ácido oleanólico inhibieron en forma significativa la formación de lesiones. El efecto gastroprotector mostró mayor dependencia de la dosis para solidagenona. Nuestros resultados apoyan el estudio de estos compuestos como potenciales drogas antiulcerogénicas.
Financiado por FONDECYT No. 1990872

INHIBICION FUNCIONAL DEL CALCIO EXPLICARIA LOS EFECTOS DEPRESORES CARDIACOS DEL DIALIZADO DE AJO (*Allium sativum*). (Functional inhibition of Ca^{2+} would explain depressant cardiac effects of *Allium sativum* dialysate).

Martín, N., *Bardisa, L., Pantoja, C., Horta, P. y Gallardo, A.M. Depto. de Farmacología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.

En el presente trabajo investigamos los efectos del dializado de ajo sobre la homeostasis intracelular del calcio en músculo cardíaco de rata, con Ca^{+2} subnormal, normal y en presencia de una sobrecarga de este ión.

En aurícula izquierda aislada de rata, la cual se contrae isométricamente y en aurícula derecha que late espontáneamente en un Ringer 0.75 mM de Ca^{+2}, la sobrecarga de este ión en el baño (4.5 mM) en ambas preparaciones, incrementó la tensión y la frecuencia, controlándose el registro hasta los 35s. Cuando se incubó previamente con dosis crecientes de dializado en el baño (0.52mg/ml a 4.2mg/ml) se redujo en forma proporcional a la dosis, la tensión y frecuencia incrementadas por la sobrecarga impuesta a las aurículas. En esta condiciones tanto el trabajo cardíaco como el AUC decrecieron en forma dosis-dependiente en presencia de ajo. El estudio teórico de interacción entre el dializado y el ión Ca^{+2}, permite postular una relación antagónica entre ambos, en un mismo sitio del miocito.

En otro grupo de experimentos realizados en aurícula izquierda, estimulada eléctricamente y con calcio normal (1.4 mM), la fracción activa de ajo (2.1 mg/ml) redujo la tensión de una familia de curvas (primeras contracciones crecientes) obtenidas a intervalos progresivamente mayores: 4, 8, 15, 30 y 60s, obteniéndose la máxima (disminuida) a los 60s, en relación al control sin ajo (a los 30s). Este hallazgo sugiere un retardo y una inhibición de la captación de Ca^{+2} en el RS por efecto de la fracción activa. Por otra parte y utilizando la misma preparación, las tensiones desarrolladas por contracciones espontáneas post intervalo de 1 min (sin estimulación) y registradas a 100 mm/s también fueron deprimidas por el dializado de ajo (2.1mg/ml), lo que apoya la hipótesis de restricción de un transiente intracelular de calcio y de la generación de la fuerza sistólica. Esta inhibición fue sinergizada significativamente por la incubación previa con dantroleno sódico (50μM), agente que inhibe la liberación de calcio desde el RS. Los resultados obtenidos sugieren un control muy efectivo del dializado sobre una transiente intracelular de calcio en el miocito de rata, que condicionaría los específicos efectos inótropos negativos y la actividad antiarrítmica previamente descritos para esta fracción.

* *In memoriam del Profesor Luis Bardisa Ubeda (1924-1999)*

ESTUDIO FARMACOCINETICO Y NIVELES TISULARES DE ENROFLOXACINA EN TRUCHAS TRATADAS CON METOMIDATO. (Pharmacokinetic and tissue concentration of enrofloxacin in trout (*Oncorhynchus mykiss*) treated with metomidate).

*Lüders C., °Mancini M., °Prieto G., *Betancourt L., *Godoy J., *Moncada M., *Salinas Y., *Aguilera A. *Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Católica de Temuco. °Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Rió Cuarto, Argentina

Enrofloxacina (EFX), es una alternativa terapéutica antimicrobiana en peces, por lo que se propuso conocer su disposición y niveles tisulares en truchas. Se utilizaron 125 ejemplares clínicamente sanos y sin tratamientos previos con un peso de 276 ± 8.19 gramos. Se usaron estanques de 500 litros con una tasa de recambio de 2.5 y temperatura del agua de 19.5 ± 2.9 °C, albergando estos 5 truchas por tiempo. Se trabajo con las series endovenosa, intraperitoneal y oral simultáneamente, los tiempos de sacrificio (5 truchas por tiempo) y toma de muestras (sangre, músculo y piel) intercalados fueron a las 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72 horas post administración de EFX. Previo al tratamiento y antes dél sacrificio se anestesiaron con metomidato a una concentración de 5ppm en agua. Las concentraciones del antibiótico en suero y tejidos se determino mediante método microbiológico utilizando Bacillus subtilis ATCC 6633. Los datos se procesaron con el programa Resid para la obtención de los distintos parámetros farmacocinéticos. EFX se describe por un modelo de 2 compartimento para las vías endovenosa e intraperitoneal y de 1 compartimento para la vía oral, se depura lentamente de los tejidos en especial de piel, presenta una biodisponibilidad del 77 y 75 % para la vía intraperitoneal y oral respectivamente, con un periodo de resguardo para consumo de 190 horas. Se concluye que EFX es una alternativa válida para su uso en peces y los parámetros obtenidos permiten una adecuada dosificación terapéutica como también evitar su residuo en los animales destinados a consumo.

BIOLOGIA CELULAR II

HGF/SF ESTIMULA LA MIGRACION DE CELULAS SATÉLITE MUSCULARES. FUNCIÓN DE LOS PROTEOGLICANOS EN ESTE PROCESO.(HGF/SF stimulates migration of skeletal muscle satellite cells. Involvement of proteoglycans.) Villena, J. Depto. Biología Celular y Molecular. Facultad Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. Patrocinio: E. O. Campos.

El factor de crecimiento de hepatocitos (HGF/SF) es un factor capaz de ejercer efectos en diferentes procesos (proliferación, migración, invasión, etc.). HGF/SF juega un papel importante durante el desarrollo de la musculatura esquelética. Se ha demostrado que HGF/SF y el factor de crecimiento básico de fibroblastos (FGF-2) intervienen en la migración de células miogénicas en las extremidades de embrión de ratón durante el desarrollo muscular. Dado que estos factores presentan afinidad por moléculas de tipo heparina, nosotros planteamos que estos procesos estarían modulados por la presencia de proteoglicanos (PGs). En este contexto nosotros hemos descrito anteriormente la participación conjunta de proteoglicanos de heparán sulfato (PGHS) y FGF-2 en la diferenciación muscular. Ya que tanto durante el desarrollo como en la regeneración muscular se requiere que los mioblastos proliferen y migren, hemos centrado nuestra atención en este último proceso.
Hemos evaluado el efecto de diferentes factores de crecimiento en la migración de células satélite musculares de ratón C_2C_{12}. Los ensayos de migración indican que HGF/SF y FGF-2 incrementan la migración en las células C_2C_{12}. Hemos determinado, mediante inhibición de la sulfatación por adición de clorato, que PGs intervienen en el proceso de migración celular en las células C_2C_{12}.
Financiado por FONDECYT 3980028 a J. Villena. y 1990151 a E. Brandan y HHMI. E. Brandan es Cátedra Presidencial en Ciencias.

IDENTIFICACION DE UNA PROTEINA-AUTOANTIGENO (P72) EN EL APARATO DE GOLGI (Identification an autoantigen-protein (p72) in the Golgi apparatus). Mardones, G. y Mella, R., Dpto. Biología Celular y Molecular, Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. Patrocinio: Dr. Alfonso González.

El estudio de proteínas del aparato de Golgi es de gran interés por la función central de este organelo en la ruta exocítica. Una estrategia para la identificación de nuevas proteínas celulares es la utilización de autoanticuerpos de diversas enfermedades autoinmunes. En este trabajo describimos la caracterización de una proteína mediante autoanticuerpos que muestran un patrón de inmunofluorescencia de Golgi, según co-localización con alfa-manosidasa II y sensibilidad a brefeldina A. El análisis por SDS-PAGE de fracciones subcelulares enriquecidas en membranas de Golgi identificó una proteína de 72 kDa, que en condiciones no reductoras disminuye su movilidad electroforética, sugiriendo que forma complejos por enlaces disulfuro. En experimentos de extracción con carbonato de sodio y con fuerza iónica esta proteína se comporta como periférica de membrana. Además, una parte importante se distribuye en citosol. Estos resultados sugieren que p72 podría reciclar entre citosol y aparato de Golgi y ser parte de la maquinaria de transporte vesicular.
(FONDECYT # 2990027, 1980974 y Cátedra Presidencial en Ciencias)

EFECTO DE HOMOCISTEINA EN LA EXPRESION DE GENES QUE REGULAN LA BIOGENESIS MITOCONDRIAL, EN CELULAS ENDOTELIALES. (Effect of homocysteine on the expression of mitochondrial biogenesis genes in endothelial cells). Almarza C y Foncea R. (Patrocinio: F. Leighton) Lab. Citología Bioquímica y Lípidos, Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Se ha descrito que la hiperhomocisteinemia (HH), importante factor de riesgo cardiovascular, provoca alteraciones mitocondriales en hepatocitos y células endoteliales. Se desconoce el mecanismo por el cual la homocisteína (HC) afecta a las mitocondrias. Se ha propuesto que el daño celular por HC involucra daño oxidativo, mediado por generación de especies reactivas del oxígeno (EROs), especialmente H_2O_2. Recientemente demostramos que las EROs estimulan la biogénesis mitocondrial mediante el aumento de la expresión de los factores de transcripción, NRF-1 y Tfam.
En este trabajo estudiamos el efecto de HC en la expresión de NRF-1 y Tfam en HUVEC, incubadas con concentraciones crecientes de HC (50 - 1000 uM). Se determinó la generación de EROs mediante el incremento en la fluorescencia de 2,7-diclorofluoresceína y la expresión de NRF-1 y Tfam por RT-PCR. Los resultados mostraron que concentraciones menores de 200 uM de HC, aumentan significativamente la generación intracelular de EROs. Al estudiar la expresión de NRF-1 y Tfam en respuesta a HC, se evidenció un aumento en la expresión de estos factores de transcripción respecto a los controles.
Estos resultados muestran que HC induce la expresión de genes que regulan la biogénesis mitocondrial, mecanismo que estaría mediado por EROs.
(Financiamiento: PUC-PBMEC99)

EFECTO DE ANTIOXIDANTES FENOLICOS SOBRE LA EXPRESION DE LOS GENES cMOAT Y γ-GCS EN EL HIGADO DEL RATON . (Effect of phenolic antioxidants on cMOAT and γ-GCS gene expression in the mouse liver). Wielandt,A.M., Vollrath,V., Chianale,J. Departamento de Gastroenterología, Universidad Católica de Chile.

El transportador multiespecífico de aniones orgánicos (cMOAT) es una glicoproteína de transmembrana localizada en el dominio canalicular del hepatocito que transporta hacia la bilis diversos endo y xenobióticos conjugados con glutatión (GSH), el antioxidante más abundante en el hepatocito. La enzima glutamilcisteína sintetasa (γ-GCS) es la enzima limitante en la síntesis de GSH. **Objetivos**:Determinar el efecto de los antioxidantes hidroxianisol butilado(BHA) e hidroxitolueno butilado(BHT) sobre la expresión de los genes cMOAT y γGCS. **Métodos**: Ratones hembras CF1 fueron alimentadas por 3 días con una dieta suplementada con 0.75% de BHA o BHT. El análisis de la expresión génica se realizó por Northern blot. **Resultados**:Se observó un aumento significativo en el nivel de mRNA (5-8 veces) para el gen cMOAT y 19-23 veces para γ-GCS en los ratones tratados con BHA y BHT respectivamente.Los niveles de expresión de las proteínas cMOAT y γ-GCS, determinados por Western blot, se incrementaron 3 y 4 veces respectivamente en los ratones tratados con BHA. **Conclusión**:Estos resultados sugieren una regulación coordinada de la expresión de los genes cMOAT y γ-GCS en el hepatocito como una respuesta adaptativa de dos mecanismos de detoxificación celular de xenobióticos. Los mecanismos moleculares de la co-expresión de estos genes son desconocidos.(Proyecto Fondecyt 1990510).

ACTIVACION DE HEMO OXIGENASA-1 (HSP-32) POR HOMOCISTEINA EN CELULAS ENDOTELIALES HUMANAS. (Heme Oxygenase-1 (HSP-32) Activation by Homocysteine in Human Endothelial Cells).

Cristian Carvajal, Federico Leighton. Laboratorio de Citología Bioquímica y Lípidos. Departamento de Biología Celular y Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. Alameda 340, Casilla 114-D, Santiago, CHILE.. ccarvajm@puc.cl; fleight2@genes.bio.puc.cl

Concentraciones plasmáticas de Homocisteína en el rango de 20-50 µM son considerada como un factor de alto riesgo puesto que se asocian fuertemente con la generación de enfermedad cardiovascular ateromatosa. En células HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) en cultivo es posible estudiar el efecto que tendría, en condiciones fisiológicas, altas concentraciones de homocisteína plasmática. Para esto, se estudia el rol de homocisteína, en concentraciones elevadas, como inductor de estrés oxidativo en la célula endotelial. Un marcador conocido de estrés oxidativo es la activación de la Hemo oxigenasa-1 (HO-1). El tratamiento por 6 horas de las células HUVEC con DL-Homocisteina en concentracion de 100 µM produce un significativo aumento en la cantidad de HO-1 con respecto al control (aumento relativo 1±0.2 vs. 3.5±0.3). Esta activación se analiza mediante western blot en un rango amplio de concentraciones (10-1000µM) donde se observa una respuesta bifásica de la célula endotelial a la homocisteína : una curva rápida de aumento dosis-dependiente 10-100µM y una curva lenta de aumento a partir de 200-1000µM. Así mismo es posible observar un efecto de protección dosis dependiente (20-60µM) del daño oxidativo cuando se preincuban 1 hora las células endoteliales con Quercetina, un flavonoide encontrado en distintos vegetales. En conclusión presentamos evidencias que apoyan la hipótesis que atribuye al daño oxidativo sobre células endoteliales la actividad pro-aterogenica de la homocisteína.

(Financiado por PUC-PBMEC, 1999)

EL ALERGENO DEL LITRE, [3-PENTADECIL (10-EN) CATECOL], SE UNE COVALENTEMENTE A PROTEINAS DE 30 KDa PRESENTES EN MITOCONDRIAS AISLADAS DE HIGADO DE RATA (The allergen from litre establishes covalent bonding to 30 Kda. proteins from rat liver isolated mitochondria).

[1,4]De Ioannes A.E., [1]Quezada S., [2]Garbarino J. y Ferreira J. DBC. Facultad de Ciencias Biológicas. [1]Pontificia Universidad Católica de Chile. [2]Universidad Federico Santa María, Facultad de Ciencias. [3]ICBM. Programa de Farmacología Molecular y Clínica. Universidad de Chile. [4]Biosonda S.A.

Litreol, el principio activo del litre *Lithraea caustica*, es responsable de una severa dermatitis de contacto en humanos.
Estudios del efecto de litreol en la respiración de mitocondrias, indican que el alergeno inhibe el flujo de electrones de la cadena respiratoria a nivel del Complejo III. La inhibición requiere la presencia de la estructura catecólica y de la cadena alifática, puesto que pentadecil fenol y 3 metil catecol no ejercen una inhibición significativa en la respiración.
Debido a que la inducción de reacciones de hipersensibilidad retardada por haptenos como litreol, requieren de la modificación covalente de proteínas propias, se estudió la unión de litreol marcado con ^{3}H en las posiciones 10 y 11 de la cadena alifática a proteínas mitocondriales. Mediante análisis por medio de PAGE-SDS y fraccionamiento submitocondrial, se observó la marcación covalente preferencial de dos proteínas de ≈30KDa. La presente en la membrana interna podría ser citocromo c1, por su tamaño y las características de la inhibición de la respiración. La de la membrana externa podría corresponder a alguna subunidad de la NADH-ubiquinona óxido reductasa mitocondrial.

Financiamiento FONDECYT: 1-96-0510 a ADI y 1-98-1066 a JFP

VARIABILIDAD DIURNA DE NIVELES PLASMATICOS Y SOBREEXPRESADOS DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL HUMANO. (Daily variability of plasmatic and overexpressed human tumor necrosis factor levels).

Aguillón, J.C., Escobar, A., Aguirre, A., Ferreira, L., Colombo, A., Molina, M.C., Ferreira, A. Programa de Inmunología, ICBM., Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El factor de necrosis tumoral (TNF) es una citoquina pleiotrópica, con actividades inmunológicas y neuroendocrinas. Este trabajo tiene como objetivo determinar la variabilidad diurna en la producción *ex vivo* y plasmática de TNF, asociándola con la variación diurna del cortisol plasmático. Se tomó sangre de nueve voluntarios sanos (8, 12, 16 y 20 horas), realizándose un cultivo *ex vivo* de sangre completa. Los niveles de TNF y cortisol fueron medidos mediante ensayos inmunométricos. Tanto en sangre completa estimulada con LPS, como en plasma, existen variaciones interindividuales en los niveles de TNF. Mediante la prueba de parcelas divididas, se observa una diferencia significativa ($\alpha < 0.05$) en los niveles detectados a las 20 horas. El patrón general de producción y sobreexpresión de la citoquina se conserva a través del día ($p<0.05$), mientras el ritmo de cortisol es normal. No se encontró asociación entre los niveles de la hormona y los de TNF obtenidos en el ensayo *ex vivo* y en plasma, lo que reflejaría un posible enmascaramiento de la fase hormono dependiente, más que una ausencia del rol supresivo de corticoides sobre TNF. Concluimos que el principal determinante de la producción de TNF durante el día, sería el componente genético.

Financiamiento: FONDECYT 1990936, UNESCO/RELACIN.

FORMACION DE LIPIDOS COMPLEJOS DERIVADOS DE DROGAS HIPOLIPIDEMIANTES EN HEPATOCITOS E HIGADO DE RATA. (Formation of complex lipids derived from hipolipidemic drugs in rat liver and isolated hepatocytes).

Gatica A., P. Universidad Católica de Chile, Fac. Ciencias Biológicas, Depto. de Biol. Celular y Molecular.

La formación de lípidos complejos que presentan unidas covalentemente moléculas distintas de los ácidos grasos tradicionales ha sido descrita en plantas y animales. Compuestos anfipáticos, naturales o sintéticos, con uno o varios grupos carboxílicos son buenos candidatos para formar estos lipidos complejos debido a su potencialidad para ser conjugados con CoA-SH y posteriormente utilizados por las enzimas microsomales del hígado en la biosíntesis de lípidos. Entre estos compuestos se encuentran drogas hipolipidemiantes de uso clínico, pesticidas, herbicidas, aditivos de alimentos y solventes industriales. No se conocen las características estructurales que rigen la formación de lípidos complejos así como tampoco los posibles efectos su acumulación en tejidos o sus efectos sobre el metabolismo lipídico y vías de transducción de señales asociadas a él. Considerando estos antecedentes, en este estudio se investigó la formación de lípidos complejos en cultivos primarios de hepatocitos y en el hígado de ratas tratadas crónicamente con dos drogas hipolipidemiantes que presentan grupos carboxilícos: Nafenopin y Ciprofibrato. Los lípidos totales provenientes de los cultivos celulares e hígados fueron extraídos y luego separados en distintas fracciones lipídicas mediante cromatografía. Las fracciones obtenidas fueron transesterificadas para formar los esteres metílicos de los ácidos grasos y/o droga y luego fueron analizadas mediante Cromatografía de gas/ Espectrometría de masas. Los resultados obtenidos demostraron la formación de lípidos complejos en los cultivos primarios de hepatocitos. En el hígado de ratas tratadas con concentraciones farmacológicas no se detectó la formación de lípidos complejos salvo a dosis altas de Ciprofibrato. En hepatocitos en cultivo, ambas drogas se encontraron unidas covalentemente en triglicéridos, aunque Nafenopin se unió 10 veces más que Ciprofibrato. Nafenopin también se encontró unido en diglicéridos y fosfolípidos. En el hígado de ratas tratadas con dosis altas de Ciprofibrato esta droga se encontró unida solo en triglicéridos. Los resultados obtenidos indican que a pesar de su similitud estructural y sus propiedades hipolipidemiantes comunes, estas drogas son diferencialmente unidas a lípidos hepáticos y parecen presentar distintos niveles de acumulación bajo condiciones de sobredosis o exposición por largos períodos de tiempo. (Financiado por Fondecyt 1971232 y Cátedra Presidencial en Ciencias a M. Bronfman.)

BIOQUIMICA III

FOSFATASA ALCALINA INTESTINAL: ¿UN POSIBLE RECEPTOR PARA IgG? Intestinal alkaline phospatase: A possible IgG receptor? Pérez T., Villanueva J., y Amthauer R. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

En distintas especies, las inmunoglobulinas atraviesan epitelios por un mecanismo de transcitosis mediado por un receptor Fc. Evidencias experimentales indican que fosfatasa alcalina une IgG por su dominio Fc. Sin embargo, actualmente existe controversia sobre la participación de esta enzima en la endocitosis de IgG. Distintos grupos han demostrado que IgG administrada oralmente es internalizada en el intestino del pez *Cyprinus carpio*. Nuestro grupo ha demostrado que IgG se une a membranas de ribete en cepillo (BBM) aisladas del intestino del pez. Entre distintas proteínas inmovilizadas en nitrocelulosa, sólo IgG y su fragmento Fc unen fosfatasa alcalina intestinal de carpa (IAP). Con el fin de demostrar que el sitio de unión para IgG en BBM corresponde a IAP, hemos utilizado distintas estrategias. El tratamiento de BBM con proteinasa K no afecta en forma significativa su contenido de IAP y coincidentemente tampoco afecta el nivel de unión del fragmento Fc o de IgG a estas membranas con respecto a BBM controles. La unión de IgG se correlaciona con la actividad específica de IAP en las BBM. Adicionalmente, en ensayos de "ligand blotting" se observa unión de IgG a tres bandas de proteínas de BBM una de las cuales podría corresponder a IAP. En conjunto, los resultados sugieren que IAP constituye uno de los sitios de unión para IgG en las BBM.
Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1980993

ACTIVIDAD METALOPROTEINASICA Y SUS PROTEINAS REGULADORAS EN LIQUIDO CEFALORAQUIDEO DE PACIENTES NORMALES Y CON PATOLOGÍAS INFLAMATORIAS. (Metalloproteinase activity and its regulatory proteins in cerebrospinal fluid from normal patients and with inflammatory pathologies.) Kettlun, AM., Collados, L., Manami R., Mercado C., Macari A., Cartier, L. Dpto de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile.

La actividad metaloproteinásica (MMP) en líquido cefalorraquídeo (LCR) corresponde al menos a dos MMP solubles: MMP-2 de 72 kDa y MMP-9 de 92 kDa. La actividad MMP cumple una función importante en el remodelamiento de la matriz extracelular siendo una actividad que se encuentra regulada por diversos mecanismos, encontrándose entre ellos la interacción con las proteínas tisulares inhibidoras (TIMPs).
Los objetivos del presente trabajo fueron comparar el patrón de MMPs y cambios en la expresión de TIMP-1 y TIMP-2 en LCR de controles sanos y pacientes con patologias inflamatorias.
La actividad metaloproteinásica se determinó mediante zimografía en geles de poliacrilamida con gelatina y la cantidad de TIMP se midió mediante "immunowestern blot" utilizando anticuerpos policlonales contra los TIMPs, los cuales fueron revelados por quimiluminiscencia.
Los controles sanos estudiados presentaron exclusivamente actividad MMP-2, en cambio los pacientes con las diversas patologías inflamatorias estudiadas mostraron además de la actividad MMP-2, la actividad MMP-9, la cual puede provenir de la activación de los linfocitos presentes en el LCR. En cuanto a los TIMPs, se encontró un aumento significativo en ambos comparado con los controles sanos. La presencia elevada de estas proteínas regulatorias puede ser como un mecanismo de protección para contrabalancear la mayor cantidad de MMPs expresadas (MMP-9).

PERDIDA DE HETEROCIGOSIDAD EN EL CROMOSOMA 3p EN PIEL HUMANA NORMAL CON EXPOSICION CRONICA AL SOL. (Loss of heterozygosity in the short arm of arm of chromosome 3 in normal human skin with chronic sun exposure). Brown, N.E., Molgo, M., González, S., Alvarez, M.G. y Ziegler, A. Programa Cáncer, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile. Patrocinio: Velasquez, L.

Pérdida de heterocigosidad en el cromosoma 3p es un evento temprano en carcinogénesis cervico-uterina y pulmonar. En cáncer no-melanocítico de piel, pérdidas en 3p se encuentran en 23% de carcinomas espinocelulares y en 31% de queratosis actínica. Para determinar tales pérdidas, se analizaron biopsias de piel normal expuesta crónicamente al sol sin lesiones malignas, de personas de piel clara (ε 40 años). Se realizó PCR con marcadores polimórficos de microsatélites (D3S1597: región 3pter-p24.2, D3S1211: 3p24.4-p22) marcados con [μ-P32]. Se evaluó la pérdida en 3p por electroforesis en geles de acrilamida denaturantes. Analizando 35 muestras con D3S1597, de 23 informativas, 5 presentaron pérdida en 3p (22%), 12 fueron no informativas. Con D3S1211, de 15 informativas, 2 presentaron pérdida en 3p (13%), 17 muestras fueron no informativas. Resultados inmunohistoquímicos no revelaron reducción aparente del receptor tipo II de TGF-β en muestras con pérdida en 3p. Nuestros datos sugieren que la pérdida en 3p es un evento temprano en la génesis del cáncer no-melanocítico de piel y aparentemente no afecta al gen del receptor tipo II de TGF-β (localizado en 3p22).
Fondecyt 1980926.

ESTUDIO DE MUTACIONES PUNTUALES DE *TP53* EN LESIONES MALIGNAS Y PREMALIGNAS DE CANCER DE VESICULA BILIAR (*TP53* point mutations study in malignant and premalignant gallbladder cancer lessions). Moreno, M[1]., Miquel, J.F[1]., Wistuba, I[2]., Behrens, C[3]., Gazdar, A[3]. Deptos. Gastroenterología[1] y Patología[2], P. Universidad Católica de Chile; UT-Southwestern Medical Center[3], Dallas-TX-EEUU. Patrocinio Dr. José Chianale.

El cáncer de vesícula biliar (CVB) es frecuente en Chile y su patogenia desconocida. Se ha propuesto que la secuencia de eventos en su desarrollo es: cálculos→Colecistitis-crónica (CC)→displasia (D)→carcinoma *in situ*→cáncer invasor. El rol de *TP53* en CVB no se ha establecido completamente. **Objetivos**: Determinar la presencia de mutaciones puntuales en exones 5-8 del gen *TP53* en lesiones premalignas y malignas de CVB. **Métodos**: Se analizaron muestras de tejido microdisecado de 30 tumores, 16 displasias (DT) y 7 epitelios normales (E) adyacentes a tumor. Se incluyeron 40 D y 22 CC no asociadas a tumor. La evaluación de mutaciones se realizó mediante la técnica NIRCA (Non-Isotopic-RNase-Cleavage-Assay) sobre los 4 exones amplificados por PCR anidado y posterior secuenciación directa. **Resultados** : Se detectaron mutaciones puntuales en el 63% de los tumores (transición C→T >50%), y el 69% y 57% de DT y E, respectivamente. Destaca que muestras no asociadas a tumor presentaron mutaciones en el 27% CC y el 23% D. **Conclusiones** : El hallazgo de mutaciones puntuales de *TP53* en lesiones premalignas y malignas, sugiere que la inactivación de este gen ocurre precozmente y podría tener un papel importante en la patogenia del CVB.
(FONDECYT 1971100).

ANALISIS GENETICO MOLECULAR DEL GEN BRCA1 EN TREINTA FAMILIAS CHILENAS CON CANCER MAMARIO. (Molecular genetic analisis on the BRCA1 gene, in thirty chilean families with breast cancer) [1]Gallardo M, [1]Egaña L, [1]Austin D, [2]Paredes H, [2] Ballesteros G.[3], Castillo C, [3]Cruz A, [4]Silva M, [5]Rousseau C, [5]King M.C, [1]Carvallo P. [1]Depto de Biología Celular y Molecular, Fac Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, [2]Instituto Nacional del Cáncer, [3]Hospital Barros Luco, [4]Hospital Regional de Valdivia, [5]Universidad de Washington,Seattle.USA.

Se ha determinado que el 10% de los casos de cáncer mamario son hereditarios, y de éstos, el 85% son atribuídos a mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2. BRCA1 es un supresor de tumores, cuyo gen consta de 100 Kb y 24 exones. Se han descrito más de 250 mutaciones a lo largo de este gen en pacientes de distintos orígenes étnicos. En este trabajo se estudió la presencia de mutaciones en el gen BRCA1 en treinta familias chilenas con cáncer de mama. Cada exón fue amplificado por PCR y analizado por SSCP (conformómeros de simple hebra) y secuenciación. Hasta el momento hemos encontrado una mutación en el exón 5 en dos pacientes (madre e hija) pertenecientes a una de las familias estudiadas. Esta mutación no descrita anteriormente en la literatura consiste en una inserción de una A en la posición 307 del gen, lo que provoca un corrimiento en el marco de lectura del mRNA que resulta en un codón de término prematuro. (Proyecto FIRCA-NIH 5 R03 TW00847-03).

UNA MUTACION CON UN PROBABLE ANCESTRO MEDITERRÁNEO EN UNA FAMILIA CHILENA CON SÍNDROME DE LARON (Laron syndrome mutation in a Chilean family with a probable mediterranean ancestor). [1]Espinosa, C., [1]Sjoberg, M., [2]Salazar, T., [2]Cassorla, F., [2]Mericq, V. [1]Depto de Biología Celular y Molecular, Facultad de Cs. Biológicas, P. Universidad Católica de Chile; [2]IDIMI, Universidad de Chile. Patrocinio: P. Carvallo.

El síndrome de Laron es un desorden autosómico recesivo producido por insensibilidad a la hormona de crecimiento (GH). Se han descrito diversas mutaciones en el gen del receptor de GH (GHR). Una de estas mutaciones crea un nuevo sitio de splicing en el exón 6 (E180splice) y ha sido descrita en una familia del sur de Ecuador y en un paciente de origen Judío. En ambos casos esta mutación está asociada con un haplotipo específico (I) ubicado en el intrón 9 del gen GHR, y que es un haplotipo muy frecuente en poblaciones del Mediterráneo (52%). En este trabajo se estudió una familia Chilena compuesta de padres consanguíneos y siete hijos, dos de los cuales presentan síndrome de Laron. El análisis de la secuencia del gen GHR reveló la presencia de la mutación E180splice en los dos hermanos afectados. El estudio del haplotipo asociado a la mutación E180splice en esta familia, determinó la correspondencia con el haplotipo I. Por otra parte, la determinación de la frecuencia de los siete haplotipos posibles en la población chilena (100 cromosomas), mostró que este haplotipo presenta una muy baja frecuencia (0.12%). Estos resultados apoyan la hipótesis de un ancestro común, meditarráneo, para la mutación E180splice en las familias chilena y ecuatoriana y el paciente judío.(Fondecyt 197-0276)

ANALISIS GENETICO-MOLECULAR DEL DNA MITOCONDRIAL DE MOMIAS Y DE DOS POBLACIONES ACTUALES DEL NORTE DE CHILE (Molecular Genetic Analysis of mtDNA from mummies and two living populations from the North of Chile). Mauricio Moraga, Carmen Morales y Francisco Rothhammer. Programa de Genética Humana, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La determinación de polimorfismos genéticos del DNA mitocondrial ha sido utilizada extensamente en el estudio de las poblaciones humanas contemporáneas. Sin embargo este tipo de estudios sólo da cuenta del estado actual de estas poblaciones, sin dar información de las poblaciones extintas, como de la composición de las poblaciones ancestrales. La posibilidad de obtener DNA a partir de muestras esqueletarias ancestrales permitiría obtener este tipo de información. Se analizó la presencia de los cuatro haplotipos de mtDNA definidos para amerindios, así como polimorfismos de secuencia en la región hipervariable I del D-loop. Se estudiaron 144 individuos de origen Aymará (dos poblaciones) y muestras esqueletarias correspondientes a 25 momias provenientes del valle de Azapa (Cabuza y Alto Ramirez), datadas entre 2500 y 1500 años AP. En las poblaciones vivas se encontró el haplotipo B en un 57 y 62%, respectivamente, mientras que el haplotipo C alcanzó 18 y 25%. Los haplotipos A y D resultaron minoritarios. En el grupo de momias estudiadas se encontró una mayor frecuencia de los haplotipos A y C (26 y 32%), una baja frecuencia de D (5%) y lo que resulto más interesante la ausencia del haplotipo B. Además se presenta un 37% de muestras sin ninguno de los cuatro haplotipos (FONDECYT 297-0028, 198-1111).

CARACTERIZACION DEL POLIMORFISMO GENETICO GENERADO POR SECUENCIAS PARTIDORAS AL AZAR EN CULTIVARES DE CABERNET, MERLOT Y CARMENERE. (Characterisation of genetic polymorphisms generated by random primers in cabernet, merlot and carmenere cultivars). Cantillana, C.(1), Garay, T.(1), Gidekel, M. (2), Gutiérrez, A. (2), Herrera, R.(1) Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.(1). INIA Carillanca (Patrocinio: E. Hubert).

Patrones genéticos característicos de los cultivares de *Vitis vinifera* L. Cabernet sauvignon, Carmenere, Cabernet franc fueron generados mediante el uso de la técnica de Polymerase Chain Reaction (PCR). Partidores al azar y microsatélites "anchored-primer" fueron usados como cebador de la reacción de amplificación.
Los fragmentos diferenciales para los cultivares Carmenere y Cabernet franc fueron separados en geles de agarosa, purificados y clonados en pGEM T (Promega). Al secuenciar dichos fragmentos se encontró una alta homología a β-1,3 glucanasa y segmentos de ribosomas.
Se reconocen dos clones del cultivar Cabernet sauvignon, uno de racimo largo y otro de racimo corto. Dichos fenotipos no fueron discriminados cuando se usaron 10 secuencias oligonucleótidicas al azar como partidores. Mediante el uso de partidores microsatélites «anchored-primer» y AFLP, se logró amplificar fragmentos específicos que permiten distinguir dichos clones. Los fragmentos amplificados se separaron mediante geles de poliacrilamida 5% y revelados mediante tinción de plata.
En el presente trabajo se discutirá el uso de partidores anchored-primer para tipificación, así como también la estrategía que permite distinguir clones.
Agradecimiento Se contó con financiamiento de: DIUT 454/IFS

ECOLOGIA II

DEMOGRAFIA Y DINAMICA POBLACIONAL DE LA "YACA" (*Thylamis elegans*) EN CHILE SEMIARIDO: ESTACIONALIDAD, DENSO-DEPENDENCIA Y CLIMA. (Demography and population dynamics of the mouse-opossum (*Thylamys elegans*) in semiarid Chile: seasonality, density-dependence and climate). Lima, M.[1], Stenseth, N. C.[2], Yoccoz, N. G.[3] & Jaksic, F. M.[4] 1 Depto. de Ciencias Ecológicas, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago, Chile. 2 Div. of Zoology, Dept. of Biology, University of Oslo, P.O. Box 1050, Blindern, N-0316, Oslo, Norway. 3 Dept. of Arctic Ecology, Norwegian Institute for Nature Research, Polar Environment Center, N- 9296 Tromsr, Norway. 4 Depto. de Ecología, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile.

En este estudio se analiza la demografía y dinámica poblacional de la "yaca" (*Thylamys elegans*). Se determinó los efectos de los factores denso-dependientes y denso-independientes (precipitaciones y El Indice de Oscilación Sur) en diferentes procesos demográficos. Esta información fue incorporada en un modelo matricial y se comparó las predicciones con la dinámica observada. El reclutamiento fue influenciado negativamente por la denso-dependencia retrasada, la sobrevivencia fue influenciada en forma negativa por la denso-dependencia directa y el SOI, y positivamente por las precipitaciones. La reproducción mostró un claro patrón estacional y fue positivamente influenciada por las precipitaciones. El modelo densodependiente exhibió variabilidad intra-anual (estacionalidad) y estabilidad inter-anual. Los resultados sugieren que factores tales como la estacionalidad, la denso-dependencia y el clima son ingredientes esenciales para entender la dinámica poblacional de esta especie. Se sugiere que la principal diferencia entre especies irruptivas y aquellas caracterizadas por dinámicas poblacionales más estables en Chile semiárido sería su estructura denso-dependiente. AGRADECIMIENTOS: FONDECYT 3980042 a ML.

PETICIONES DE ALIMENTACION: COMUNICACION Y COMPETENCIA ENTRE HERMANOS. (Begging for food: communication and sibling competition). Rodríguez-Gironés, M.A. Zoological Laboratory, University of Groningen, Holanda. (Patrocinio: R.A. Vásquez)

Los individuos de especies diploides con reproducción sexual están más relacionados consigo mismos que con sus descendientes, lo cual conlleva a la existencia de un conflicto genético entre padres y crías a la hora de decidir el nivel de inversión parental. Las consecuencias conductuales de dicho conflicto han sido estudiadas principalmente en aves altriciales, ya que sus crías utilizan señales vistosas para solicitar comida. Resultados experimentales muestran que la intensidad de las señales está correlacionada con el período de ayuno de las crías y que si éstas aumentan la intensidad de las peticiones, los padres responden elevando la tasa de entrega de alimento al nido. Modelos teóricos basados en el principio del handicap muestran que, si las peticiones de alimentación son costosas, existe un equilibrio en el que el nivel de petición de un polluelo refleja su condición interna, y en el que los padres utilizan la información contenida en las peticiones de alimento para ajustar su tasa de trabajo, con el fin de maximizar su eficacia biológica. Sin embargo, dichos modelos poseen también un equilibrio en el que no se transmite información. Además, simulaciones con computadoras han mostrado que sólo este segundo equilibrio, en el que no se transmite información, es estable. El propósito del presente modelo es demostrar que, si la competencia entre hermanos determina la forma en que la comida es distribuida entre las crías, el equilibrio en el que no se transmite información desaparece y el equilibrio informativo se estabiliza.

VARIABILIDAD DEL RECLUTAMIENTO DE UN DEPREDADOR Y CAMBIOS EN LA ESTRUCTURA COMUNITARIA DEL INTERMAREAL ROCOSO. Carlos A. Moreno, William E. Duarte & Jorge Guerra. Instituto de Ecología y Evolución. Universidad Austral de Chile

Se realizó un programa de monitoreo 15 años de la abundancia del depredador clave del intermareal rocoso del sur de Chile (*Concholepas concholepas*, Mollusca: Muricidae) y de su principal presa (*Semimytilus algosus*, Bivalvia: Mytilidae) en plataformas expuestas del intermareal bajo de Mehuin, Valdivia, con el objetivo de conocer los procesos que regulan esta comunidad. Para ello se estudió los asentamientos, la tasa de depredación, las relaciones asentamiento-reclutamiento, así como la riqueza de especies que utilizan el sustrato primario.
Se encontró que la abundancia de los depredadores depende principalmente del proceso de asentamiento que genera reclutas un año más tarde. También se encontró que el depredador controla la abundancia de su principal presa en un corto periodo de tiempo (tres meses). Las consecuencias de la variabilidad del reclutamiento del depredador, sugiere que en una escala de tiempo anual, la comunidad bentónica sigue la abundancia del depredador. De esta forma, cuando el depredador recluta de forma abundante, la presa cae, y vice-versa, mientras el gremio de los usuarios del espacio primario, se alterna con periodos de alta y baja riqueza de especies.
El análisis de la información sobre la ecología larval de estos dos interactores muestra que la larva del depredador vive durante un largo periodo de tiempo en el plancton (4 meses) y recluta estacionalmente algunos años, mientras la larva de la presa puede mantenerse todo el año en el plancton, para reclutar de forma oportunística sobre algas filamentosas.
Esta información sugiere que este acoplamiento, da origen a estados comunitarios alternativos, y que éstos son necesarios para la persistencia de toda la comunidad en el tiempo.
Trabajo financiado por el Proyecto FONDAP Programa mayor N°3.

TRANSMISION INTRA E INTERESPECIFICA DE HANTAVIRUS EN ROEDORES SILVESTRES: HIPOTESIS ALTERNATIVA A LOS ENCUENTROS AGONISTICOS. Murúa, R, Figueroa, R y LA González. Instituto de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad de Austral de Chile, Valdivia, Chile.

La via de transmisión aceptada del virus Andes en *Oligoryzomys longicaudatus* han sido las mordeduras, tanto a individuos de la misma como a otras especies de roedores silvestres (spill-over). Sin embargo, en un estudio realizado en la X° región, se encontraron 5 animales positivos pero ninguno presentó heridas en su cuerpo. Este hecho motivó buscar una explicación alternativa a la transmisión, de vía indirecta por uso de alimentos y materiales en lugares comunes a las especies.
Se registraron las heridas de todos los animales colectados los años 1998-99 en la X° región. El grado sobreposición se determinó por capturas sucesivas en un retículo de 10 x10 trampas shermann establecido en el Bosque San Martin.
Se analizaron 205 *O.longicaudatus* encontrándose un total de 17% de animales con heridas. De ellos 105 hembras presentaron un 12,3% con heridas y los machos un 21% (100).
A.olivaceus tuvo un nivel de heridas de 22% de 169 individuos y *A. longipilis* un 48% de un total de 165 animales.
El bajo porcentaje de heridas presentado por *O.longicaudatus*, reduciría las posibilidades de infección directa. Por otra parte se encontró que *O.longicaudatus* comparte tanto espacial como temporalmente áreas de trampeo con las restantes especies lo que abre las posibilidades de infección indirecta.
(Convenio: UACH- Servicio de Salud -Valdivia)

VARIACION ESPACIAL Y TEMPORAL DE UN ENSAMBLE DE AVES EN UN BOSQUE RELICTO FRAGMENTADO EN CHILE SEMIARIDO. (Temporal and spatial variation of a bird assemblage in a relict fragmented forest in semiarid Chile). Cornelius Cintia, Olga Barbosa, Celeste Silva y Pablo A. Marquet. Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Los estudios sobre los efectos de la fragmentación del bosque templado en Chile han sido escasos y han abarcado escalas temporales cortas. Nuestro objetivo fue describir los patrones de variabilidad espacial y temporal de un ensamble de aves que se encuentra en fragmentos de bosque templado en el Parque Nacional Fray Jorge. Los censos se realizaron estacionalmente en fragmentos de distinto tamaño desde 1996 hasta 1999. Los resultados muestran que: 1) la relación especies-área varia estacionalmente, 2) la correlación entre los coeficientes de regresión y valores de la pendiente de la relación especies-área se correlacionaron positivamente con los valores del Indice de Oscilación de Sur con un lag temporal de tres meses, 3) un patrón similar se observa para la distribución anidada de las especies, 4) existe sincronía en la variación del número de especies registradas en cada fragmento a lo largo del tiempo, 5) la variación temporal en el número de especies y la tasa de recambio de éstas fue mayor en los fragmentos pequeños y 6) existe una respuesta diferencial de las especies en los patrones de ocurrencia y abundancia temporal y espacial dada por sus diferentes historias de vida. FONDECYT 1990144.

EVIDENCIA MORFOMETRICA, DIETARIA Y PARASITOLOGICA DE VARIACION ONTOGENETICA Y GEOGRAFICA EN EL ESTADO TROFICO DE PECES INTERMAREALES. (Morphometric, diet and parasitological evidence of ontogeneitc and geographic variation in the trophic status of intertidal fishes). Aldana, M., Pulgar, J., Ogalde, F, y Ojeda FP. Departamento de Ecología. P. Universidad Católica de Chile. Casilla 114-D, Santiago.

Los estudios del ensamble de peces intermareales señalan la presencia de tres grupos funcionales: herbívoros, omnívoro y carnívoros. Esta clasificación ha permitido establecer relaciones ecológicas entre sus componentes. Sin embargo, la variación temporal y espacial en el uso de recursos ha sido escasamente considerada. En este estudio se evaluó la variación ontogenética y geográfica del estado trófico de dos especies de peces intermareales a través del análisis de la morfometría del intestino, dieta y parasitofauna. El análisis morfométrico y dietario revelan que en *Girella laevifrons* y *Graus nigra* el estado trófico estaría asociado a la localidad geográfica sugiriendo la importancia de un componente exógeno que podría estar dado por la oferta ambiental. Además, el estado trófico de *G. Laevifrons* estaría asociado a la ontogenia. Las variaciones geográficas y ontogenéticas de la dieta de estos peces no se reflejan en la fauna de parásitos transmitidos tróficamente. Se discute la importancia de componentes exógenos y endógenos en el estado trófico y parasitofauna de *G. laevifrons* y *G. nigra*.
Agradecimiento: Aldana M. y Pulgar J. agradecen beca doctoral Conicyt. Financió Fondap O & BM (3).

SELECCION FENOTIPICA SECUENCIAL EN RASGOS REPRODUCTIVOS DEL MUERDAGO *Tristerix aphyllus*. Cecilia Smith. Dpto. de Ecología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago. Csmith@netexpress.cl

Los estudios de selección fenotípica indagan el valor adaptativo del fenotipo con respeto a su adecuación biológica, son recientes en plantas y han examinado principalmente el valor adaptativo de rasgos florales. Estos estudios han analizado episodios de selección de polinización y dispersión por separado. En este trabajo, se abordan simultáneamente ambos procesos, con respecto a la accesibilidad de flores y frutos a polinizadores y dispersores.
Se postula que las espinas de las cactáceas hospederas constituyen una barrera física para la polinización y remoción de frutos de *T. aphyllus* (planta parásita, Loranthaceae). Se espera que la selección favorezca individuos con pedúnculos más largos, los cuales dejan más expuestos las flores y frutos. Para poner a prueba, el supuesto, se cortaron las espinas de las cactáceas hospederas. Un número equivalente de individuos que no fueron manipulados fueron usados como control. Los resultados revelaron mayor oportunidad de selección en dispersión que en polinización. Los coeficiente y gradientes de selección indicaron que individuos con mayor número de yemas y flores, fueron más visitados. El número de frutos mostró selección direccional en componentes de la adecuación por dispersión. Si bien la longitud del pedúnculo no fue seleccionada, los individuos con frutos extremadamente fuera de la matriz de espinas fueron preferidos por el dispersor.
Análisis de selección secuencial muestran la dispersión es un evento altamente selectivo, mucho más que polinización, y cualquier carácter seleccionado en la dispersión puede ser amortiguado completamente en la siguiente etapa del ciclo de vida.

RIESGO Y DECISIONES CONDUCTUALES ASOCIADAS AL FORRAJEO DEL GASTROPODO INTERMAREAL *Nucella crassilabrum*. (Risk and behavioral decision associated with the foraging of the intertidal gastropod *Nucella crassilabrum*) Soto, R.E. Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile.

La teoría de forrajeo fue desarrollada desde el concepto que los individuos maximizan el ingreso de energía sobre el tiempo. Modelos posteriores dieron cuenta que la búsqueda de alimento incrementaba el riesgo de mortalidad lo cual se reflejaba directamente sobre la conducta de forrajeo. En el presente trabajo se analiza la conducta de alimentación del gastrópodo *Nucella crassilabrum* y sus variaciones asociadas al riesgo de mortalidad provocado por inanición y depredación.En acuarios de agua de mar circulante se instalaron 16 caracoles bajo dos tratamientos: 8 con el depredador *Heliaster helianthus* y 8 sin depredador, a cada uno de los individuos se le medio su tasa de consumo y el tiempo asociado a la busqueda manipulación e ingestión de presas. Por otra parte, se evaluó la tasa de consumo a individuos con distintos períodos de inanición.Los individuos sometidos a riesgo de depredación disminuyen significativamente su tasa de consumo, esta respuesta es independiente del estado ontogenético de los caracoles. El estado de inanición determina variaciones en la conducta de forrajeo de *N.crassilabrum*, las cuales están principalmente asociadas al tamaño de presa seleccionado y tiempo de manipulación. Se discute el efecto del riesgo fisiológico y biológico sobre la conducta de alimentación y su incorporación a los modelos de forrajeo.
Agradecimiento: Proyecto FONDECYT 2980020 y Beca CONICYT.

BIOLOGIA CELULAR III

El TRANSPORTE FACILITADO DE MANOSA OCURRE A TRAVÉS DE LOS TRANSPORTADORES GLUTs (Mannose facilitated-transport occurs through the GLUTs transporters). Rodríguez, P.H.¶, Vera, J.C.* y Reyes, A.M. ¶Centro de Investigaciones Mineras, Santiago, *Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción e Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia,

Los transportadores de glucosa, o GLUTs, permiten el transporte facilitado de D-glucosa y otras hexosas tales como D-manosa. Sin embargo, se ha propuesto que la principal ruta de captación celular de D-manosa en células de mamíferos corresponde a un transportador específico de elevada afinidad que no es inhibido por altos niveles de D-glucosa (*J. Biol. Chem.* 271; 9417-9421, 1996). Nosotros mostramos aquí que en eritrocitos humanos y en células HL-60 el transporte de D-manosa ocurre exclusivamente a través de un sistema de transporte que posee una $K_{(entrada)}$ para D-manosa cercana a 6 mM. El transporte de D-manosa es inhibido competitivamente por D-glucosa, 2-desoxiglucosa y 3-O-metilglucosa, pero es insensible frente a L-glucosa, y es bloqueado en su totalidad por citocalasina B, floretina, y por los flavonoides genisteína y miricetina. Asimismo, D-manosa desplaza competitivamente la unión de citocalasina B unida a membranas de eritrocitos humanos, indicando que esta hexosa se une al transportador GLUT1. Un análisis de varios tipos celulares humanos confirmó que el transporte de D-manosa es bloqueado en su totalidad por citocalasina B. Proponemos que en humanos los GLUTs son el principal sistema de transporte de D-manosa, y que no existiría un sistema de transporte específico para D-manosa independiente de D-glucosa. (Financiado por proyectos FONDECYT 1981018 y 1990333).

FUNCION DE LAS METALOTIONEINAS EN LA REGULACION DEL MANEJO DEL Cu INTRACELULAR. (Role of Metallothioneins in the regulation of intracellular copper). Tapia, L. y Uauy, R. Laboratorio de Biología Molecular, INTA, Universidad de Chile.

Las metalotioneínas (MT) son proteínas que participan en el metabolismo celular de Cu. Sus propiedades fisicoquímicas le permiten unir con alta afinidad varias moléculas del metal y transferirlas a otras metaloproteínas. La expresión de MT es regulada por Cu y Zn, y su incremento se correlaciona con un aumento en la resistencia a la toxicidad generada por la sobreexposición al metal. Nuestro interés esta centrado en el análisis del mecanismo por el cual MT protege a la célula de la sobreexposición a Cu. En este trabajo se analizó la participación de MT en la regulación del balance (entrada, almacenamiento y salida) y localización del Cu intracelular. Específicamente se comparó el tráfico celular de Cu en 2 líneas celulares de fibroblastos de ratón, una silvestre (MT+) y una que no expresa MT (MT-). Los resultados del análisis de la cinética de incorporación y secreción de ^{64}Cu-His muestran cursos temporales similares, siendo mayor en un 30% para las células MT+. La cuantificación del Cu total por espectroscopia total de rayos X (TXRF) mostró que ambas líneas tienen el mismo contenido de Cu (0.8 nmoles/mg prot) el cual aumenta en igual proporción durante la exposición sostenida al metal. Estos resultados sugieren que en condiciones de exposición aguda y crónica a Cu, vías MT-independientes regulan la tasa de entrada, almacenamiento y salida del metal. Financiado por Fondecyt 3970009 y Cátedra Presidencial Dr. Ricardo Uauy.

EXPRESION DEL RECEPTOR SCAVENGER CLASE B TIPO I (SR-BI) EN CELULAS ENDOTELIALES HUMANAS (Human endothelial cells express scavenger receptor class B type I(SR-BI)). Soledad Miranda, Cristian Zambrano y Attilio Rigotti. Laboratorio de Citología Bioquimica y Lípidos. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile. smiranda@genes.bio.puc.cl

La disfunción endotelial juega un papel clave en el proceso de aterogénesis. La oxidación de las LDL del plasma está directamente relacionada con esta patología, mientras que las HDL tendrían un rol protector. Las células endoteliales expresan receptores para LDL oxidada y nativa, sin embargo no se ha descrito la expresión de receptores de HDL. SR-BI, un receptor que une HDL, fue encontrado recientemente en hígado y tejidos esteroidogénicos. Objetivo: Estudiar la expresión de SR-BI en célula endotelial y caracterizar la respuesta endotelial a lipoproteínas oxidadas Metodología: Se determinó expresión de receptores de lipoproteínas, genes marcadores de estrés oxidativo y su modulación eventual por lipoproteínas nativas y oxidadas, mediante inmunocitoquímica y Western Blot, en cultivos de células endoteliales humanas Resultados: Se encontró una clara expresión basal de SR-BI en células endoteliales. Como control se uso el receptor CD36 que reconoce LDL oxidada. La exposición de células endoteliales a lipoproteínas oxidadas induce el gen de heme oxigenasa I y activa al factor de transcripción NF-kB, ambos marcadores de estrés oxidativo. Conclusión: Los resultados sugieren que las lipoproteínas plasmáticas oxidadas aumentan los niveles celulares de ROS y demuestran por primera vez la expresión de un receptor de HDL en células endoteliales humanas. (Fondecyt 2990085, PUC-PBMEC99)

PARTICIPACION DE PROTEINAS FOSFATASAS EN EL CONTROL DE LA SECRECION DE ALDOSTERONA. (Involvement of protein phosphatases in the control of aldosterone secretion). Foster R., Alarcón J., Casado A., Catalán L., Estrada M., Pino M. y Gaete F. Programa Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (Patrocinante: De la Fuente, M.).

La secreción de aldosterona en la corteza adrenal es activada por angiotensina II (AII), adrenocorticotrofina (ACTH) y potasio extracelular (K^+). Mientras que la respuesta a ACTH depende de cAMP, AII y K^+ dependen de calcio (Ca^{2+}) citosólico. Los mecanismos involucrados frente a estos factores incluyen la activación de diferentes proteínas quinasas. Sin embargo el estado de fosforilación de una proteína reguladora depende además de la actividad de proteínas fosfatasas.
Hemos evaluado la participación de proteínas fosfatasas en la producción de aldosterona en respuesta a AII, ACTH y K^+ mediante el uso de ácido okadaico (AO), potente inhibidor de proteínas fosfatasas. Nuestros resultados indican que AO inhibe la secreción de aldosterona en respuesta a AII, ACTH y K^+. Para establecer si el efecto de AO se debe a cambios en el Ca^{2+} citosólico, hemos medido cambios de fluorescencia en células de adrenal de bovino mediante Indo-1 y Fluo-3 en respuesta a AII, en presencia y ausencia de OA. Los resultados indican que AO aumenta el Ca^{2+} citosólico en condiciones de no estimulación y aumenta la liberación de Ca^{2+} inducida por AII lo que sugiere que el efecto de OA dista a los cambios de Ca^{2+} citosólico.
Proyecto FONDECYT 1981106

IGF-1 PREVIENE LA APOPTOSIS INDUCIDA POR DISTINTOS AGENTES EN CULTIVOS PRIMARIOS DE CARDIOMIOCITOS DE RATA NEONATA. (IGF-1 prevent apoptosis induced by diferents stimuli in rat cardiomyocytes) Eltit JM, Ocaranza P, Morales MP, Gálvez A, Calixto A, Lavandero S. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Fac. Cs. Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. Proyecto Fondecyt 1980908

La apoptosis o muerte celular programada, es un proceso fisiológico o asociado a patologías caracterizado por cambios morfológicos (disminución del volumen celular, condensación de la cromatina nuclear, etc.) y bioquímicos (fragmentación del DNA cromosomal: "DNA laddering", etc.) en la célula blanco. La apoptosis se puede activar por múltiples y diferentes estímulos tanto a un incremento en los niveles de la proteína proapoptótica BAX, como a la activación de aspartato-proteasas (caspasas) específicas y que conducen a la muerte celular.
Los cardiomiocitos son células diferenciadas, por lo que han perdido la capacidad de proliferar. Recientemente se ha comprobado que estas células en respuesta a cierto tipo de estrés, responden experimentando apoptosis y/o hipertrofia. Se ha propuesto que el factor de crecimiento análogo a insulina tipo-1 (IGF-1), podría ser un agonista hipertrófico y un potente agente antiapoptótico en el cardiomiocito. Este trabajo tiene por objetivo, caracterizar el efecto antiapoptótico del IGF-1 en cultivos primarios de cardiomiocitos de rata sometidos a deprivación de suero, exposición a doxorrubicina (1μM), exposición a Angiotensina II (100nM) y exposición a Sorbitol (0,3M) por 6, 24, 48 y 72 horas. La apoptosis se evaluó por medio de marcadores específicos como son: DNA laddering en geles de agarosa, TUNEL, degradación de caspasas (ICE,etc.) y PARP (Poli-ADP-Ribosa Polimerasa), entre otros.
Los resultados mostraron que aunque los cuatro agentes generaron apoptosis en los cultivos de cardiomiocitos, cada uno de ellos presenta un comportamiento temporal particular para inducirla, siendo doxorrubicina y sorbitol los más potentes inductores estudiados. La preincubación de los cardiomiocitos con IGF-1 recombinante (100nM) antes de la exposición al apoptótico, generó distintos grados de protección a la apoptosis, evidenciada a través de una disminución de la fragmentación del DNA o de la degradación de PARP. Particularmente, IGF-1 antagonizó más efectivamente la apoptosis inducida por estrés osmótco (sorbitol 0,3M). Se concluye que el IGF-1 previene el desarrollo de apoptosis del cardiomiocito por distintos estímulos apoptóticos.

EXPRESION DEL ARNm DE LA CONEXINA 43 (Cx43) EN OVIDUCTO DE RATA. (Expression of connexin-43 (Cx43) mRNA in the rat oviduct). Utreras E., Ojeda S., González J., Villalón M. and Croxatto HB. Laboratorio de Endocrinología. Unidad de Reproducción y Desarrollo. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Las acciones de las células que conforman el oviducto deben ser coordinadas, por lo tanto es probable que células vecinas se acoplen eléctrica o químicamente a través de uniones en hendidura (UH). Las UH son canales intercelulares formados por conexinas. Anteriormente hemos demostrado que existen UH en células epiteliales y musculares de oviducto de rata. Mediante inmunocitoquímica y western blot se detectó la presencia de Cx43 en oviducto de rata y se determinó que el contenido de esta proteína depende del tipo de célula, estado de desarrollo y estado hormonal de la rata. Además se determinó que el estradiol aumenta el contenido de Cx43 en el oviducto de la rata. En el presente trabajo se determinó la expresión del ARNm de Cx43 mediante la técnica RT-PCR con el objeto de estudiar la regulación de la expresión génica de esta molécula. Se aisló ARN total obtenido de separadamente de ámpula e istmo de oviducto de rata en distintos días del ciclo estral. Con partidores específicos se amplificó el ADNc de Cx43 y además se amplificó el ADNc de β-actina como control interno. Los resultados obtenidos muestran que existe una mayor expresión del ARNm de Cx43 en el segmento ístmico con respecto al ampular, además la expresión génica de Cx43 no varía respecto a los días del ciclo estral en ámpula pero sí en istmo, siendo menor en diestro 1 y diestro 2 con respecto al proestro y estro. Estos resultados muestran una similitud entre la expresión de ARNm de Cx43 y el contenido de la proteina en el oviducto durante el ciclo estral.
Financiado por PLACIRH #PLC-229/99, FONDECYT # 8980008 y Cátedra Presidencial en Ciencias Dr. H. Croxatto.

EFECTO DE VARIOS ESTERES DEL ACIDO 2,6-DIHIDROXI-4-CARBOXI-FENOXIACETICO (DIHICARFACET) SOBRE LA RESPIRACION DE CELULAS TUMORALES DE RATON. (Effect of several esters from 2,6-dihydroxy-4-carboxyphenoxyacetic acid on mice tumoral cells respiration). Ferreira, J., Griñó, B., Gajardo, P., Pérez, C., Pavani, M., Guerrero, A., Repetto, Y., *Cordano, G., *Rivera, E., *Muñoz, S., y *Medina, J. Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina y *Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

El ácido gálico es un trihidroxicarboxibenceno ampliamente distribuido en la naturaleza. Posee, entre otras propiedades, citotoxicidad selectiva sobre una amplia variedad de células cancerosas, al bloquear la respiración celular. Sus ésteres simples son más tóxicos, que aumenta según la mayor lipofilicidad de la molécula.
Obtuvimos compuestos más lipofílicos mediante síntesis de diésteres a partir del ácido derivado DIHICARFACET con alcoholes de 3 y 4 átomos de C. Estudiamos sus efectos sobre la respiración y el crecimiento del carcinoma de ratón TA3 y de su sublínea multirresistente TA3-MTX-R implantado en el muslo. La velocidad de respiración fue principalmente inhibida, tanto en ausencia como en presencia del desacoplante CCCP, sugiriendo que son bloqueadores del flujo de electrones de la cadena respiratoria (CR). El grado de inhibición (IC_{50}: 0,1-0,5 mM), si bien fue mayor al aumentar el tamaño y la ramificación del alcohol, fue muy similar para ambos tumores. Mediante el uso de dadores de electrones a diferentes niveles de la CR, concluimos que el sitio de acción es el Complejo III. Además, la generación del potencial de transmenbrana fue drásticamente interrumpida. Por consiguiente, la síntesis de ATP mitocondrial estaría también inhibida. Hechos que estarían relacionados con la disminución del crecimiento tumoral *in vivo*.
Financiamiento: FONDECYT Nº 1981066

CARACTERIZACION FISICOQUIMICA E INMUNOQUIMICA DE HEMOCIANINA DE *Concholepas concholepas* (Physicochemical and Immunochemical Characteristics of *Concholepas concholepas* Hemocyanin). María Inés Becker, Claudia Infante, Rodrigo Valenzuela y Alfredo E. De Ioannes. Laboratorio de Inmunología, BIOSONDA S.A.

Las hemocianinas, proteínas transportadoras de O_2 presentes en la linfa de moluscos y artrópodos, tienen varias características notables: gran tamaño, compleja estructura tridimensional, múltiples estados de agregación y numerosos centros de coordinación de O_2 mediante átomos de Cu^{+2}. Por su origen filogenético tan distante de los vertebrados, son excelentes estimulantes del sistema inmune. En este contexto, la hemocianina mejor caracterizada dada su amplia utilización como antígeno experimental e inmunoestimulante, es la que proviene del molusco californiano Keyhole Limpet (*Megathura crenulata*) conocida cómo KLH.
La sobre-explotación del Keyhole Limpet ha provocado escasez de KLH y, dado los alentadores resultados de su uso en la terapia del cáncer superficial de vejiga en humanos, se ha generado una fuerte demanda de KLH y una búsqueda de moléculas con similares propiedades. Por esta razón, encontrar proteínas sustitutas para complementar el uso de KLH, que ofrezcan ventajas comparativas tales como abundancia del recurso e inmunogenicidad, es de relevancia para las áreas de biomedicina y biotecnología. Este es el caso de la hemocianina de *Concholepas concholepas* (CCH) conocido como loco, molusco abundante y exclusivo de las costas chilenas, sujeto a un régimen bentónico de extracción y proceso para evitar su sobre-explotación.
Se presenta un estudio de algunas características fisico-químicas relevantes de CCH en relación a la respuesta inmune, tales como: peso molecular, tamaño y número de subunidades, contenido de carbohidratos y reacción cruzada con KLH.
Financian: Proyectos FONTEC-CORFO 98-1392 y FONDECYT 199-0258

BIOQUIMICA IV

EXPRESION DEL GEN DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA DE *Trypanosoma brucei* EN *Saccharomyces cerevisiae*. (Expression of the *Trypanosoma brucei* phosphoenolpyruvate carboxykinase gene in *Saccharomyces cerevisiae*). Yévenes, A., Jabalquinto, A. M. y Cardemil, E., Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología, Casilla 40, correo 33, Santiago Chile.

La carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) cataliza la conversión de oxaloacetato y fosfoenolpiruvato en presencia de un nucleósido trifosforilado. Las enzimas de microorganismos y plantas son específicas para ATP, mientras las de animales superiores utilizan GTP. Ambos grupos presentan diferencias en estructura cuaternaria y no presentan secuencias conservadas. La enzima de *Trypanosoma brucei* y *Trypanosoma cruzi*, parásitos responsables de la enfermedad del sueño en Africa y la enfermedad de Chagas en América del Sur y Central, respectivamente, son dímeros de subunidades idénticas con un 85% de identidad de secuencia. Las diferencias estructurales y catalíticas entre las enzimas de los parásitos y humano las convierte en excelentes blancos para el diseño de inhibidores específicos. El gen que codifica para la PEPCK de *T. brucei* fue obtenido por PCR del plasmidio pTbp60B como un inserto *Eco*RI-*Hind*III, el cual fue clonado en el plasmidio de expresión en levadura pYES2. Con el plasmidio resultante se transformó la cepa de *S. cerevisiae* deficiente en PEPCK, PUK-3B. Las células transformadas fueron crecidas en rafinosa como fuente de carbono, luego la PEPCK de T. brucei fue inducida con galactosa al 2%. Se presenta una comparación entre la PEPCK recombinante y nativa.
Financiado por DICYT-USACH 029941CU y FONDECYT 1970670.

FACTORES DE TRANSCRIPCION DE LA FAMILIA CBFα/AML/PEBP2α INTERACTUAN CON NUCLEOSOMAS RECONSTITUIDOS QUE INCLUYEN SECUENCIAS PARA LA EXPRESION TEJIDO-ESPECIFICA DEL GEN DE OSTEOCALCINA. (CBFα/AML/PEBP2α transcription factors interact with reconstituted nucleosomes containing promoter sequences that confer bone-specific expression to the osteocalcin gene). Gutiérrez,J. Dpto. Biología Molecular. Fac. Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Patrocinante: Martín Montecino.

Un proceso de remodelación nucleosomal en el promotor del gen de osteocalcina (OC) acompaña su activación transcripcional tejido-específica. Ambos eventos se vinculan a interacciones proteína-ADN específicas en este promotor. Entre éstas, la unión de un factor de la familia CBFα/AML/PEBP2α se ha descrito como un evento clave para la transcripción del promotor de OC. Para estudiar la relación entre organización nucleosomal y unión de factores de transcripción a sus secuencias motivo, hemos reconstituido como mononucleosomas segmentos del promotor proximal de este gen y estudiado la unión a éstos de proteínas Cbfα. Se analizó la unión de Cbfα2a y Cbfα2b, dos factores que in vivo actúan antagónicamente. También se determinó para ambos la influencia de su heterodimerización con CBFβ. Nuestros resultados indican que la unión de Cbfα2a, tanto a ADN desnudo como nucleosomal, es independiente de Cbfβ. Contrariamente, la unión de Cbfα2b fue aumentada significativamente por Cbfβ. Adicionalmente, se determinó que la interacción de Cbfα2a y Cbfα2b/Cbfβ con ADN nucleosomal requiere de un grado de flexibilidad traslacional del octámero de histonas. Nuestros resultados sugieren que los factores CBFα estarían vinculados a los eventos iniciales de remodelación nucleosomal que median activación transcripcional tejido-específica en el gen de OC.
FONDECYT 2990066;1971077

ESTUDIO DE LA UNION DEL RECEPTOR DE 1α,25-DIHIDROXIVITAMINA D_3 A LA REGION PROMOTORA DISTAL DEL GEN DE OSTEOCALCINA DE RATA *in vitro*. (Analysis of the binding of 1α,25-dihydroxyvitamin D_3 receptor to the distal promoter region of the rat osteocalcin gene *in vitro*).

R.Paredes, Imschenetzky, M., Montecino, M. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

El receptor de vitamina D_3 (VDR) pertenece a la familia de receptores nucleares y provoca una respuesta transcripcional por inducción con el ligando 1α,25-dihidroxivitamina D3, mediante unión a elementos de respuesta específicos (VDRE) presentes en el promotor de genes blanco. El receptor del ácido 9-cis retinoico (RXR) es requerido para la formación de un heterodímero VDR-RXR, el cual se une a un VDRE. En este trabajo se demuestra que, cuando el promotor distal del gen de OC de rata, que contiene un elemento de respuesta a vitamina D_3, se reconstituye como mononucleosoma *in vitro*, es refractario a la unión de VDR/RXRα. La unión del heterodímero no es inducida por vitamina D_3 y tampoco es facilitada por el factor de transcripción AML/Cbfα, el cual se une corriente abajo de VDRE, en forma no excluyente al promotor desnudo.

FONDECYT 1971077, DIUC 96031071-1.1D.

LA HIPERSENSIBILIDAD A DNasa I EN EL PROMOTOR DEL GEN DE LA HISTONA TEMPRANA H3 DEL ERIZO DE MAR *Tetrapygus niger* ESTA ASOCIADA CON LA UNION DE FACTORES DE TRANSCRIPCION ESPECIFICOS. (DNase I hypersensitivity at the early histone H3 gene promoter from the sea urchin *Tetrapygus niger* is associated with specific transcription factor binding).

Medina, R. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Universidad de Concepción. rmedina@udec.cl. Patrocinante: Marcia Puchi.

Durante la embriogénesis temprana del erizo de mar se expresan cuatro clases de genes de histonas. La transcripción de los genes tempranos se inicia al estado de 16 células, alcanza un máximo al estado de 128 células y luego disminuye gradualmente hasta ser inhibida al estado de blástula. Estos genes se repiten 300-500 veces, se organizan en tandem, cada uno de los cuales incluye una copia de los cinco genes de histonas (H4, H2B, H3, H2A, H1), todos con la misma polaridad de expresión. Esta expresión temporal es regulada a nivel de secuencias del promotor proximal, que contiene elementos reconocidos por varios factores de transcripción, aún no bien identificados. Utilizando PCR y primers específicos hemos clonado y secuenciado las regiones promotoras y codificante del gen temprano H3 del erizo de mar *Tetrapygus niger*. Hemos identificado secuencias que son específicamente reconocidas por factores de transcripción presentes en extractos nucleares aislados a partir de embriones de distintos estados del desarrollo embrionario. Estas secuencias están localizadas dentro de regiones del promotor que muestran hipersensibilidad a DNasa I asociada con activación transcripcional.

FONDECYT 2990041

IMPORTANCIA DE LA DISPOSICION MODULAR DE ELEMENTOS REGULATORIOS EN EL PROMOTOR DE OSTEOCALCINA (Importance of a modular organization for the regulatory elements in the osteocalcin promoter).

Sierra, J.; Puchi, M.; Montecino, M. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Se ha descrito que en células óseas que expresan el gen osteocalcina (OC), el promotor presenta dos sitios hipersensibles a DNasa I localizados entre –600 y –400 (sitio distal) y entre –170 y –70 (sitio proximal). Estos sitios incluyen a elementos que regulan la transcripción basal tejido-específica de OC y el aumento inducido por vitamina D3. Se ha postulado que la región comprendida entre estos dos sitios hipersensibles se organiza como nucleosoma, permitiendo que el promotor de OC adquiera una estructura tridimensional que facilite la interacción entre factores unidos a secuencias distales con aquéllos unidos a elementos proximales. Estas interacciones proteína-proteína serían responsables de la activación transcripcional de OC, dependiente de vitamina D3, que se observa en células óseas tratadas con esta hormona. Para demostrar este postulado se han realizado construcciones donde se ha delecionado la secuencia –343/-165 del promotor de OC, o reemplazada por fragmentos heterólogos. Las distintas construcciones han sido posteriormente clonadas en frente de un gen reportero y su efecto sobre la actividad transcripcional, evaluada a través de ensayos de transfección transiente en células osteoblásticas que expresan OC. Se ha determinado un aporte significativo de esta región promotora, sobre la expresión basal e incrementada por vitamina D3.

FONDECYT 1971077, DIUC 96031071-1.1D

DESCRIPCION DE UN COMPLEJO DE RNA POLIMERASA II HUMANO QUE CONTIENE ENZIMAS QUE MODIFICAN EL TRANSCRITO PRIMARIO Y ONCOPROTEINAS VIRALES. (A human RNA polymerase II Complex Containing Capping Enzymes and Viral Oncoproteins).

Cabrejos, M.E., Morales, C.H., Serrá, A., Soto, X., y Tamayo, E. Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago 7, Chile. Patrocinio: Dr. Edio Maldonado.

La síntesis de RNA mensajeros que codifican proteínas y RNAs pequeños en eucariontes, es llevada a cabo por la maquinaria de RNA polimerasa II (RNAPII). La especificidad con que se da inicio al proceso de transcripción se logra con la participación de factores proteicos adicionales (TFIIs), los cuales permiten el reconocimiento de la caja TATA y el asentamiento del complejo multimérico sobre el promotor. Este complejo se forma por la incorporación en forma secuencial de cada uno de los TFIIs, o bien, por la incorporacion de la RNAPII holoenzima, entidad que ya contiene los TFIIs preensamblados con RNAPII. Una vez fosforilado el dominio carboxilo terminal (CTD) de RNAPII y disponiendo de nucleótidos fosforilados, se inicia la transcripción. En este trabajo describimos la purificación, mediante cromatografía de afinidad, de un complejo de RNAPII obtenido de extractos de células HeLa que fueron infectadas con Adenovirus 2. Ensayos de Western blot demuestran que el complejo aislado contiene TFIIs, factores remodeladores de cromatina, Srbs, enzimas que modifican el transcrito primario y la oncoproteína E1a. Por último, determinamos que este complejo multimérico es transcripcionalmente activo *in vitro*.

REACCION DE EDICION DE U A C EN UN TRANSCRITO QUIMÉRICO MITOCONDRIAL DE RATÓN (An editing reaction from U to C in a mouse mitochondrial chimeric transcript).

Villegas, J., Arredondo, J., Müller, I. y Burzio, L.O. BiosChile I.G.S.A., y Fundación Ciencia para la Vida, Avenida Marathon 1943, Ñuñoa, Santiago.

De una biblioteca de cDNA de testículo de ratón, seleccionamos un clon correspondiente al rRNA 16S mitocondrial más un invertido repetido de 121 pb unido al extremo 5'. Como este RNA contiene secuencias de ambas hebras del mismo gen, lo denominamos RNA quimérico. También se clonó el RNA mitocondrial quimérico de testículo de rata que posee un invertido repetido de 108 pb unido al transcrito 16 S. Sorprendente es la localización de este RNA en el núcleo del espermatozoide de ratón, rata y humano, lo que demuestra por primera vez la translocación de un RNA mitocondrial al núcleo. En posición 121 existe una **C** que de acuerdo a la secuencia debiera ser **T** (**U** en el RNA), por lo que postulamos un evento de edición de **U** a **C**. Mediante análisis de restricción de fragmentos de RT-PCR se demostró la coexistencia de ambas formas de RNA. Esto se confirmó mediante clonamiento y secuenciación de ambas formas, demostrándose por primera vez, edición de un transcrito mitocondrial de mamíferos. En tejidos somáticos, también encontramos el RNA quimérico, y resultados preliminares indican que sólo existe la forma no editada. Se discutirá la función del RNA quimérico. (Fondecyt 199-0230)

LA EXPRESION DE CK2β DE CARPA SE MODULA ESTACIONALMENTE. (The carp CK2β expression is seasonally modulated)

Kausel,G., Leal,S., Quezada,C., Vera,M.I., Universidad Andrés Bello, Santiago

La aclimatización estacional del pez *C. carpio* involucra reprogramación de la expresión génica, la que se refleja en el fenotipo celular de algunos tejidos. Los componentes nucleolares cambian de un estado integrado en verano a uno segregado en invierno. Este último representa inactivación temporal de la expresión génica nucleolar. Proteína quinasa CK2 es una de las enzimas que regula la actividad de diversos genes involucrados en la transcripción de RNA ribosomal y en la síntesis de ribosomas. Hemos aislado y caracterizado el cDNA de la subunidad β de CK2 de carpa. La secuencia aminoacídica derivada es muy conservada evolutivamente. Por hibridación *in situ* se observa que los transcritos de CK2β son más abundantes en cortes de hígado y riñón obtenidos de carpas aclimatizadas a verano respecto a las adaptadas a invierno. Para evaluar la transcripción cuantitativa de CK2β se está construyendo un sistema de RT-PCR competitivo. Usando anticuerpos anti-CK2β, en análisis de *Western-blot*, se detectó una proteína del tamaño esperado de 26KDa en extractos nucleares de tejido hepático y renal. Reacciones preliminares de inmunocitoquímica ubican la proteína en el núcleo. Actualmente se están realizando inmunoreacciones en cortes de hígado y riñón de carpas aclimatizadas a invierno y verano. Los resultados de estos experimentos nos permitirán comprender algunos de los mecanismos moleculares comprometidos en la regulación de la expresión nucleolar durante la aclimatización de la carpa.
FONDECYT 1970633.

FARMACOLOGIA II

EFECTO DE CLOMIPRAMINA EN RATAS NORMALES Y MONOARTRITICAS: ESTUDIO ALGESIMETRICO Y ELECTROFISIOLOGICO. (Effect of clomipramine in normal and monoarthritic rats: algesimetric and electrophysiological studies).

Mondaca, M.[1]., Hernández, A[1]., Soto-Moyano, R[2], Pelissier, T.[3] [1]Dep. Ciencias Biológicas, Fac. Química y Biología, Univ. Santiago de Chile, [2] Unidad Neurofisiología y Biofísica, INTA, Univ. de Chile, [3]Inst. Ciencias Biomédicas, Fac. Medicina, Univ. de Chile.

La utilización de antidepresivos tricíclicos (ATC) como analgésicos clínicos en dolor crónico obedece a razones empíricas, dado que estas drogas han sido muy poco estudiadas en modelos animales de dolor crónico. En el presente estudio se investigó en ratas con monoartritis experimental el efecto antinociceptivo de clomipramina así como su efecto en la trasmisión nociceptiva espinal. La monoartritis se indujo mediante inyección de 0.05 ml de ayudador de Freund en la articulación tibio-tarsiana conteniendo *Mycobacterium butyricus*. El desarrollo de la monoartritis se controló durante 14 semanas a través de la evolución de hiperalgesia en la extremidad afectada, evaluando los umbrales de vocalización a la presión (test de Randall & Selitto) y a la flexión y/o extensión del miembro. 8-9 semanas después de la inyección del *Mycobacterium*, el efecto antinociceptivo de clomipramina se evaluó mediante el test de Randall & Selitto y el efecto depresor de la trasmisión nociceptiva espinal se evaluó mediante el reflejo C. Clomipramina i.v. produjo analgesia y depresión del reflejo C dosis-dependiente. Estos efectos fueron significativamente mayores en las ratas monoartríticas, en comparación a los controles normales, lo que apunta al desarrollo de cambios adaptativos que favorecen el efecto de los ATC de espectro serotoninérgico en dolor crónico.

DICYT 1999, Universidad de Santiago de Chile.

ACCION ANALGESICA CENTRAL DE ANTI-INFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES EN RATAS CON DOLOR CRONICO. (Central analgesic actions of NSAIDs in rats with chronic pain).

Bustamante, D. Paeile C. y Pelissier T. ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Actualmente se acepta que parte de la acción analgésica de los antiinflamatorios no esteroidales (AINEs) se debe a un efecto central; por otra parte, la eficacia analgésica de los AINEs se ha estudiado principalmente en modelos de dolor agudo y poco en modelos de dolor crónico. Esto es importante si se considera que el SNC adapta sus redes neuronales a este tipo de dolor.
Por injección de Adjuvante de Freund en la cápsula articular tibiotarsal de ratas se indujo monoartritis. Cuatro semanas después se realizaron los ensayos de compresión de la pata (Randall-Selitto) y vocalización a la movilidad forzada de la articulación artrítica (Ankle-Bend), antes y después de la administración de dos AINEs (aspirina y ketoprofeno) y morfina (analgésico patrón) por vías subcutánea (s.c) e intratecal (i.t.).
Por vía s.c. todos produjeron analgesia significativa en ambos ensayos, siendo morfina más eficaz que ambos AINEs en el Randall-Sellito, pero no en el Ankle Bend. Por vía i.t. aspirina (50, 250 y 500 μg) carece de efecto analgésico, por el contrario, ketoprofeno (50 y 100 μg) produjo una analgesia similar a morfina (10 μg) en ambos ensayos.
Estos resultados confirman la eficacia de ketoprofeno en dolor artrítico y el componente analgésico central (medular) que se suma a la acción periférica.

Universidad de Chile DID: B-3571

SENSIBILIZACION INDUCIDA POR MORFINA EN RATONES CARENTES DEL RECEPTOR CRH1 (Morphine-induced behavioral sensitization in CRH1-receptor knockout female mice).

Sepúlveda, M.J.[1], Sillaber, I.[2] and Spanagel, R.[2] Departamento de Farmacología[1], Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción y Max Planck Institute of Psychiatry[2], Munich, Germany.

Se ha sugerido que la sensibilización tiene un papel importante en los procesos de dependencia. En la abstinencia alcohólica se ha observado la participación del factor liberador de corticotrofina (CRH), a través del receptor CRH1. Se ha demostrado que la administración de esta hormona produce una disminución de la sensibilización y de la dependencia de etanol. Para morfina la sensibilización ocurre a través de un incremento de la actividad locomotora. En este trabajo se estudia la influencia de esa hormona en la sensibilización morfínica en ratones hembras, normales y carentes del receptor, durante el ciclo estral.
Los ratones fueron inyectados durante cinco días con una dosis de 15 mg/kg y se registró la actividad motora durante dos horas mediante un sistema de video.
La morfina produjo estimulación de la actividad motora, efecto más pronunciado en los ratones carentes del receptor CRH1. Este efecto es dependiente del ciclo estral del animal, siendo mayor durante el diestro para los ratones mutantes y durante el estro para los ratones normales.
Se concluye que la sensibilización es un proceso dependiente del ciclo estral y que esta dependencia es más intensa en animales normales respecto de los carentes del receptor CRH1.

Financiado por D.I. 97.032.004-1.0 and BIP 20117780-0

UN NUEVO TEST DE DOLOR OROFACIAL: EFECTO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CAPSAICINA. (A new test of orofacial pain: effects of different capsaicin concentrations).

Pelissier T.(1), Pajot J.(2) y Dallel R.(2). (1)ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y (2)Laboratoire Physiologie Orofaciale, Faculté Chirugie Dentaire, Clermont-Ferrand, Francia.

Esta descrito que la capsaicina produce sus efectos en función de la dosis administrada: activación o desensibilización de fibras C. Por ello quisimos conocer las dosis que producen nocicepción en el territorio orofacial.
En el labio superior de ratas Sprague-Dawley (200-230 g) se inyectó capsaicina por vía s.c. en dosis crecientes desde 0.66 a 1326.3 nmol. Luego, durante 45 minutos se observó la respuesta del animal a la inyección de capsaicina mediante una cámara de video, para evitar la inhibición ambiental de la conducta.
Se midió la duración del comportamiento de rascado en el área inyectada, siendo esta conducta más frecuentemente observada entre los 15 y 21 min postadministración. Esta respuesta, corresponde a la activación de fibras C y sigue una relación dosis-efecto hasta 3.98 nmol. Dosis mayores produjeron una disminución de esta respuesta (desensibilización de fibras C).
Con el rango de dosis que produce activación se calculó una DE50, con la que se trató un grupo control (NaCl 0.9%) y otro con morfina (5mg/kg) observándose que morfina suprime completamente el efecto de capsaicina.
Se concluye que la capsaicina produce una acción pronociceptiva en la zona orofacial, útil como modelo de dolor para el estudio de fármacos analgésicos.

ECOS-CONICYT N° C97S03

MODULACION DE LA EXPRESION NEUROQUIMICA DE LA VIA TRANSINAPTICA ESTRIATO-NIGRAL POR LESIONES DOPAMINERGICAS PARCIALES. ESTUDIOS "IN VIVO" CON MICRODIALISIS CEREBRAL. (Expression of the striato-nigral pathway in DA-depleted rat brain : "in vivo" microdialysis studies). Abarca J , Gysling K. y Bustos G. Laboratorio de Farmacología-Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile.

La interacción en cuerpo estriado (CE) de receptores para aminoácidos excitatorios (AAE) del tipo NMDA y de dopamina (DA) del tipo D1, modula la expresion neuroquimica de la vía neuronal estriato-pallido-nigral. Se ha investigado el efecto de la lesion parcial de la vía dopaminérgica nigro-estriatal sobre la actividad de dicha vía estriato-pallido-nigral inducida por activación de receptores estriatales de NMDA.
Se utilizó microdiálisis cerebral simultánea en substantia nigra (SN) y CE para cuantificar la liberación basal e inducida de glutamato (GLU), aspartato (ASP) y DA en ambos núcleos cerebrales, en respuesta a una estimulación estriatal con 10 uM de NMDA+D-Serina.
La coperfusión intraestriatal con NMDA+D-Serina, aumentó significativamente la liberación de GLU y ASP en SN y CE . Dichas liberaciones inducidas por NMDA+D-Serina disminuyeron a nivel de SN, pero no de CE, en respuesta a una lesion parcial con 6-OH-DA de la via dopaminérgica nigro-estriatal. La lesion incrementó además la liberación basal de GLU y ASP en SN, y disminuyó significativamente la de DA .
Los resultados sugieren que la actividad de la vía estriato-pallido-nigral es alterada preferencialmente a nivel de liberación de GLU y ASP en SN por lesiones parciales de la via dopaminérgica nigro-estriatal.
(Proyecto FONDECYT complementario 8970010.)

DETERMINACION CUANTITATIVA DE ARNm PARA EL FACTOR LIBERADOR DE CORTICOTROFINA EN EL CEREBRO DE LA RATA (Quantitative determination of corticotropin releasing factor mRNA in rat brain). Haeger, P., Escobar, J., Forray, M.I., Gysling, K. Laboratorio Farmacología-Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

El factor liberador de corticotrofina (CRF) es un péptido relacionado a las respuestas a estrés. Estudios neuroanatómicos han mostrado la presencia de CRF y su ARNm en diversos núcleos cerebrales. Sin embargo, la cuantificación de la expresión del ARNm en dichos núcleos es escasa. El propósito de este trabajo es establecer un método para cuantificar el ARNm de CRF en regiones específicas del cerebro de la rata. Para ello, se desarrolló un ensayo de RT-PCR cuantitativo usando estándar interno.

Para generar el estándar interno se partió de un fragmento de ADN para CRF obtenido previamente en el laboratorio al cual se le adicionaron 200 pares de bases de otro gen para distinguirlo del fragmento de ADN de CRF endógeno. Por transcripción *in vitro* se obtuvo el correspondiente ARN, el cual se utilizó como estándar interno. Para cada muestra de ARNm extraído del cerebro de rata se realizó la reacción de transcripción reversa en presencia de 4 a 6 concentraciones distintas del estándar interno. El estándar interno generado permitió la cuantificación de ARNm para CRF en distintas regiones cerebrales. Se discute la utilidad de este método para la cuantificación de ARNm para CRF en núcleos cerebrales en diferentes condiciones experimentales.
Financiado por Proyecto Complementario FONDECYT 8970010

EFECTO DE UN OLIGONUCLEOTIDO "ANTISENSE" PARA EL RECEPTOR OPIOIDE μ, SOBRE LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA INDUCIDA POR ANFETAMINA. (Effects of an antisense oligonucleotide to μ-opioid receptor on the locomotor activity induced by amphetamine). Magendzo, K., Bustos, G., Lab. de Farmacología-Bioquímica, Fac. de Ciencias. Biológicas, P. Univ. Cátolica. (Patrocinio: Gysling, K.)

La inyección aguda de anfetamina produce activación locomotora en animales de experimentación. Cuando anfetamina es administrada de manera repetida e intermitente, la intensidad de la respuesta locomotora aumenta progresivamente, permaneciendo aumentada incluso después de discontinuar la droga. Este fenómeno persistente, conocido como sensibilización conductual, provee de un modelo para el estudio de los cambios neuroadaptativos que subyacen a la droga-dependencia.
Nuestra hipótesis de trabajo es que cambios en la expresión de los receptores opioides μ (MOR) se correlacionan con el desarrollo de sensibilización conductual. De modo de examinar esta hipótesis se bloqueó la expresión de MOR mediante la inyección de un oligonucleótido "antisense" (i.c.v.). Como controles se utilizó 0.9% salino, así como los oligonucleótidos "sense" y "missense". Los distintos grupos experimentales fueron expuestos a inyecciones agudas y repetidas de anfetamina o salino y la actividad locomotora fue monitoreada.
Los animales inyectados con el oligo "antisense" presentan una tendencia hacia una mayor sensibilización inducida por anfetamina, comparado con los animales controles. Sin embargo, esta diferencia no es estadísticamente significativa. No obstante, de confirmarse lo anterior, estos resultados serían consistentes con la disminución del mRNA de MOR demostrado previamente por nosotros, en el núcleo accumbens de animales sensibilizados.
(Financiamiento: Fondecyt 1960440 y 8970010)

INTERACCION FISIOLOGICA Y ESTRUCTURAL ENTRE NERVIOS ADRENERGICOS Y MASTOCITOS EN UTERO DE RATON.(Physiologic and structural interaction between adrenergic nerves and mast cells in mouse uterus) Castro T., Astuya A., Rudolph MI. Departamento de Farmacología, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

Se ha demostrado que mediadores liberados por los mastocitos provocan alteraciones neuronales similares a las que se observan en neuropatías como esclerosis múltiple y cistitis interticial.
El útero de los mamíferos posee nervios adrenérgicos que regulan la actividad contráctil del miometrio a través de receptores α1(contracción) y β2 (relajación). Por otro lado los mastocitos presentes en el miometrio, al activarse, liberan mediadores que promueven la contracción uterina. Ambas estructuras varían hacia el final de la gestación, los nervios adrenérgicos desaparecen, en cambio los mastocitos aumentan en número. El mecanismo es poco conocido hasta ahora. En este trabajo se evaluó si existe una interacción entre nervios adrenérgicos y mastocitos en miometrio de ratón que explique las variaciones que se observan durante la gestación.
Métodos: La activación de mastocitos se evaluó midiendo liberación de histamina por HPLC. La presencia de nervios adrenérgicos mediante inmunocitoquímica de Tirosina Hidroxilasa y de mastocitos por tinción metacromática con Azul de Toluidina 0.1% en HCl.
Resultados: Los cortes histológicos demostraron la presencia de mastocitos en las cercanías de los nervios adrenérgicos. La estimulación de los receptores α1 aumenta y la de los receptores β2 inhibe la liberación de histamina
Conclusión: En el miometrio se encuentran mastocitos en la cercanía de los nervios adrenérgicos, estos últimos regulan la activación de los mastocitos.
FONDECYT 1970842.

FISIOLOGIA VEGETAL Y BOTANICA

PRODUCCION COMPUESTOS BIOACTIVOS MEDIANTE EL CULTIVO *In vitro* DE TEJIDOS VEGETALES.

(Production of bioactive compounds through *in vitro* culture of plant tissues). Zúñiga, G.E. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Quimica y Biología, Universidad de Santiago de Chile. Email: gzuniga@lauca.usach.cl

La alta demanda que experimentan los productos bioactivos de plantas, provoca una sobreexplotación que en algunos casos se traduce en la desaparición del recurso. Esta situación ha planteado la necesidad de desarrollar metodológicas que permitan la propagación de plantas y/o la obtención de compuestos bioactivos. El cultivo *in vitro* de tejidos vegetales constituye una herramienta importante, pues permite disponer de un sistema de producción continuo, con un nulo impacto sobre las especies vegetales. El propósito de este trabajo fue determinar la presencia de compuestos bioactivos en cultivos de Ruda y Chamico.
Los cultivos *in vitro* fueron inducidos a partir de tallos de plantas utilizando el medio MS. Los cultivos fueron mantenidos en condiciones controladas de luz y temperatura en cámaras de cultivo A extractos acuosos y etanólicos de ambas especies se les determino su capacidad antioxidante y su capacidad para interactuar con ADN (capacidad antitumoral).
Extractos acuosos y etanólicos de ambas especies mostraron una capacidad antioxidante similar a la del α-tocoferol utilizado como estándar. De igual modo, ambos extractos mostraron una capacidad para interactuar (capacidad antitumoral) y proteger el ADN de la oxidación por hierro.
Los resultados mostrados sugieren que el cultivo de tejidos vegetales representa una alternativa viable para obtener compuestos con actividad biológica.
Trabajo financiado por proyecto FONDEF D97I2034 y DICYT, Universidad de Santiago de Chile.

ESTUDIOS DE CAMPO DE LA FOTOSINTESIS DE DOS PLANTAS CHILENAS DEL DESIERTO, *Prosopis chilensis Y Prosopis tamarugo.*

(Field Studies on the Photosynthesis of Two Desert Chilean Plants *Prosopis chilensis* and *Prosopis tamarugo*) Gabriele Lehner, José Delatorre, Liliana Cardemil and Cornelius Lütz. (Ludwig-Maximilian-Universität München y Facultad de Ciencias, Universidad de Chile; Dep. de Agricultura del Desierto, Universidad Arturo Prat y GSF Research Center, Munich, Germany).

P. chilensis y *P. tamarugo* son árboles leguminosos que crecen en las regiones semi áridas y áridas del Centro y Norte de Chile. *Prosopis tamarugo* es endémico del Desierto de Atacama en cambio *Prosopis chilensis* se encuentra de la 3ra a la 6ta Región. Ambas especies están expuestas a condiciones ambientales extremas como aridez, alta salinidad, variaciones extremas de temperatura entre el día y la noche y entre estaciones, a estrés de heridas causado por herbivoría y estrés de alta radiación solar, especialmente a radiación UV-B. Para poder estudiar comparativamente las respuestas fisiológicas que tienen ambas especies a la alta radiación UV-B presente en sus hábitats naturales, parámetros fotosintéticos fueron medidos en ambas especies en Octubre 1997 a diferentes horas del día. Los estudios de campo fueron hechos en la Estación de Refresco, en el Desierto de Atacama para *P. tamarugo* y en Peldehue (Colina) para *P. chilensis*. En este trabajo se presenta para ambas especies y a dos horas del día, la asimilación de CO_2, velocidades de transpiración, análisis de fluorescencia del fotosistema II, análisis de pigmentos y de flavonoides, habiéndose registrado simultáneamente la radiación fotosintéticamente activa (PAR) y la radiación UV-B. Los datos se comparan entre ambas especies y se discute los posibles mecanismos de adaptación a las condiciones de radiación y temperatura ambiental.

INDUCCION DE PLANTAS COMPLETAS A PARTIR DEL CULTIVO *IN VITRO* DE MERISTEMAS AISLADOS DE *Pinus radiata*.

(Induction of whole plants from *in vitro* cultured meristems isolated from *Pinus radiata*). Prehn, D[1]., Mercado, A[1]., Serrano, C[1]., Delgado, J[2]., Arce, P[2]. [1] Departamento de Ciencias de los Recursos Naturales, Unidad de Biotecnología. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile. [2] Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. Patrocinio: Dr. Jorge Delgado.

El cultivo *in vitro* de meristemas utiliza la zona apical en activo crecimiento (0,5 mm de tamaño) de plantas o árboles adultos. En nuestro laboratorio, se han utilizado ápices de *Pinus radiata* de entre 3 a 7 años de fenotipo conocido, con el propósito de regenerar una planta completa, réplica de la planta madre.
En nuestros ensayos se determinó que el tiempo de establecimiento de los meristemas es de aproximadamente 12 semanas, el cual se divide en 2 fases: la primera, que dura 2 semanas, en un medio sin hormonas, y la segunda en un medio con hidrolizado de caseína e hidroxiquinoleína. En este medio, los meristemas crecen, elongan y forman brotes, los cuales son luego sometidos a un pulso de auxinas para inducir su enraizamiento.
Además, se determinó que entre la 8ª y la 12ª semana ocurre la mayor necrosis de los meristemas (38%), especialmente en los que desarrollan un fenotipo amorfo o tunicado. Los meristemas que presentaron un fenotipo de brote incipiente o roseta (33%), permanecieron en cultivo y formaron brotes enraizables, no observándose diferencias en las respuestas por edad.
Hasta el momento es posible obtener una planta de un meristema apical. Actualmente, están en estudios métodos de multiplicación que permitan obtener varias plantas de un sólo meristema proveniente de un árbol elite.
Agradecimientos: A la Empresa Forestal Mininco S.A.

CLASIFICACION Y ORDENACION MULTIVARIADA DE UN GRADIENTE VEGETACIONAL EN MARISMA

(Multivariate classification and ordination of a vegetation gradient in a salt marsh). San Martín, C. y Subiabre, M. Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. Patrocinio: C. Ramírez.

La flora de una marisma está dominada por subarbustos y hierbas perennes, formas de vida temporalmente muy estables, lo que permite suponer que la composición florística y la abundancia de los individuos no variarán significativamente en las estaciones del año. El presente estudio analiza un gradiente de inclinación en una marisma valdiviana, para poner a prueba dicha hipótesis.
Se trabajó con una tabla fitosociológica con 24 censos, levantados en 6 puntos del gradiente en las cuatro estaciones del año, a la cual se aplicó un análisis de conglomerado para clasificar lugares y estaciones y otro, de componentes principales, para ordenar censos y especies.
El análisis de conglomerados indicó que los sectores del gradiente son diferentes en todas las estaciones del año. Sólo los censos de los sectores altos formaron un conglomerado temporalmente consistente. Los dos primeros componentes principales, que explican el 62% de la variación, segregaron las especies y censos en gradientes ecológicos de salinidad y anegamiento. *Sarcocornia fruticosa* y *Puccinellia gluacescens* se presentan como especies totalmente opuestas en sus requerimientos de sitio, lo que concuerda con su dominancia en el transecto. Se concluye que la cubierta vegetal de la marisma está sujeta a marcadas variaciones estacionales.
(Financiamiento de la DID-UACH, Proyecto N° F-95-06)

ANALISIS DE SIMPLICIDAD DE ENDEMISMOS (PAE) EN LA FLORA DE LA VIII REGION DEL BIO-BIO, CHILE. (Parsimony analysis of endemicity (PAE) in the flora of the VIII Region of Bio-Bio, Chile). Matthei O., L.A Cavieres, C.M. Baeza, C. Marticorena, & R. Rodríguez. Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.

La flora de Chile presenta un alto nivel de endemismo. Sin embargo, el conocimiento de los patrones de distribución de estos endemismos son prácticamente desconocidos a lo largo de Chile, especialmente cuando se analiza el conocimiento al nivel de regiones. Los taxa endémicos son aquellos que están restringidos a algún lugar geográfico específico y pueden definirse como la *biodiversidad única* de una región. El conocimiento de la distribución de las áreas de concentración de las especies endémicas es fundamental para llegar a una estrategia que permita el uso sustentable y la conservación de la biodiversidad del país. El análisis de simplicidad de endemismos (Parsimony Analysis of Endemicity (PAE)) es un método que permite clasificar áreas de acuerdo a taxa compartidos. El cladograma resultante representa un conjunto de áreas anidadas que comparten taxa en común, y donde las dicotomías terminales representan las especies únicas de esas áreas o endemismos. En el presente trabajo se determina a través de un análisis de PAE, áreas con concentración de endemismos dentro de la VIII Región y se compara su representación en el actual Sistema Nacional de Áreas Silvestres Protegidas del Estado chileno (SNASPE). Para esto se utilizó la base de datos de la Flora de Chile y se generó una matriz de presencia y ausencia de especies en cuadrantes de 0.5 x 0.5 grados de latitud y longitud. Con el uso del programa PAUP se generó un cladograma de áreas, de consenso estricto, donde las áreas anidadas terminales corresponden a los cuadrantes con concentración de especies endémicas.
Financiado por: Dirección de Investigación Universidad de Concepción.

ANALISIS FILOGENETICO DE LAS ESPECIES CHILENAS DEL GENERO *Acaena* (ROSACEAE). (Phylogenetic analysis of the chilean species of genus *Acaena* (Rosaceae). A. Marticorena y L.A. Cavieres, Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.

El género *Acaena* en Chile presenta 20 especies distribuídas a lo largo del país, encontrándose el mayor número de especies en la zona central y sur. El género ha sido dividido en secciones basándose principalmente en el tipo de inflorescencia y espinas de la cupela. Las especies que crecen en Chile se ubican en seis secciones; Acaena, Acrobyssinoideae, Ancistrum, Patagonica, Pleurocephala y Subtuspapillosae. El presente estudio tiene como objetivo determinar la relaciones filogenéticas entre las especies chilenas de este genéro, a partir de un análisis cladístico. El análisis cladístico se realizó utilizando 32 caracteres morfológicos tales como tipo de inflorescencia, morfología foliar, morfología del fruto, micromorfología entre otros. La polaridad de los caracteres se basó en el método de comparación del outgroup y el criterio de polaridad presentado por Kalkman (1988) para la familia. El outgroup utilizado fue una especie del género hermano *Sanguisorba*. El análisis entregó dos hipótesis igualmente parsimoniosas y aplicando el método del consenso estricto de Nelson se obtuvo un árbol de 131 pasos con un coeficiente de consistencia de 0.49. El cladograma soporta la divisiones infragenéricas clásicas con excepción de la Secc. Acaena que aparece como un grupo parafilético. Un análisis de distribución de las especies sugiere que los grupos ancestrales se distribuyen en la zona centro-sur cordillerana, mientras que los grupos más modernos se encuentran hacia el norte y las zonas costeras del país. Se discute la concordancia de estos patrones de distribución con la hipótesis filogenética obtenida del análisis cladístico.
Financiamiento: Proyecto Nueva Flora de Chile.

ACTIVIDADES ANTIOXIDANTES EN *Deschampsia antarctica*. (Antioxidant activities in *Deschampsia antarctica*.). Rasmussen-Poblete, S Escobar, J y Zúñiga. G.E. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Quimica y Biologia, Universidad de Santiago de Chile.

Durante el verano antártico *Deschampsia antarctica* esta expuesta a cambios drásticos de temperatura, luminosidad y disponibilidad hídrica. Todos estos factores inducen estrés oxidativo. Sin embargo, esta planta muestra una eficiente actividad fotosintética, que se traduce en una alta acumulación de sacarosa y fructanos. La capacidad de *Deschampsia antarctica* para realizar fotosíntesis bajo diferentes condiciones ambientales, parece ser una respuesta adaptativa y estaría determinada por su capacidad para reducir el impacto oxidativo impuesto. El propósito de este trabajo fue determinar algunas respuestas antioxidantes de *D. antarctica* crecida en su ambiente natural.
Este estudio fue realizado en la Base científica Risopatrón del Instituto Antártico Chileno en la Isla Robert. Se determinaron las actividades de las enzimas peroxidasas, catalasas, la capacidad antioxidante de los extractos.
La actividad de las enzimas peroxidasas y catalasa y los niveles de sustancias antioxidantes fueron mayor en días despejados que en días nublados. Se observaron además, cambios diarios en las actividades de enzimas y sustancias antioxidantes. La máxima capacidad enzimática fue observada alrededor del mediodía, mientras que la máxima capacidad antioxidante fue determinada al atardecer.
Los resultados mostrados sugieren que la actividad de los sistemas antioxidantes, puede ser responsable de la eficiente respuesta que muestra *D. antarctica* a las condiciones ambientales.
Esta trabajo fue financiado por Instituto Antártico Chileno y DICYT, Universidad de Santiago de Chile.

COMPOSICION QUIMICA DEL SUELO Y VEGETACION EN LA LOCALIDAD COSTERA DE PAPOSO, II REGION DE CHILE (Chemical characteristics of soils and vegetation in the coastal locality of Paposo, II Region, Chile). López-Cortes F.J.[1], Gutiérrez J.R.[1] & Marquet P.A.[2] [1]Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena, Chile. [2]Departamento de Ecología, P.U. Católica de Chile, Santiago, Chile.

En la costa occidental de Sudamérica existen localidades con influencia de neblina, distribuidas en forma discontinua desde el norte de Chile hasta latitudes subtropicales en Perú. La estabilidad del anticiclón del Pacífico y la existencia de la corriente de Humboldt permiten el desarrollo de neblinas mojadoras (camanchaca) en estas zonas, las cuales al ser interceptadas por la Cordillera de La Costa y cerros adyacentes crean zonas de alta humedad que permiten el desarrollo de comunidades vegetales de marcada insularidad, denominadas comunidades de lomas o zonas fértiles. En la II Región de Chile, Paposo es una comunidad de lomas en la que la influencia de la neblina se extiende altitudinalmente entre los 300 y 800 m. Diversos estudios han documentado la gran diversidad florística y el marcado grado de endemismo de este ecosistema. En este ecosistema son de vital importancia las interacciones que las plantas establecen sobre la condensación de la neblina (ingreso de agua al sistema), humedad y riqueza del suelo. Sin embargo, no hay información acerca de la composición química del suelo. En el presente trabajo se entregan antecedentes de la caracteristicas fisico-químicas de suelos y de diversidad de especies de plantas vasculares para la zona de estudio. En los suelos encontramos altas cocentraciones de macro y micronutrientes comparables a ambientes más mésicos de Chile.

BIOLOGIA CELULAR IV

ORIGEN Y SIGNIFICADO DE CUERPOS DENSOS, INCLUSIONES LIPIDICAS O GOTAS DE GRASA PRESENTES EN EL PERICARION DE LOS PITUICITOS DE LA RATA (Origin and significance of dense bodies, lipid droplets or fat inclusions in the perikarya of the rat pituicytes) Krsulovic, J. Departamento de Biología (Biología Celular) ICBQ, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

El problema que se plantea en la presente contribución al conocimiento de la neurohipófisis (pars nervosa) es establecer una relación morfofuncional coherente entre determinadas estructuras y ultraestructuras de origen y significado aun impreciso (cuerpos densos, inclusiones lipídicas, gotas de grasa) presentes en la glía neurohipofisiaria, con los procesos de endocitosis y fagocitosis descritos en estas células. Estímulos funcionales (deshidratación) producen en la rata (Albino rat) un aumento en número y tamaño de estas partículas, el cual es proporcional al mayor requerimiento neurohormonal: Utilizando microscopía fotónica y electrónica convencional, a manera de una primera aproximación, se describen y analizan los cambios morfológicos observados en el pericarion de esta glía específica, en animales con sistema hipotálamo neurohipofisiario hiperestimulado, en ejemplares normales y con alteraciones neurológicas (rata taiep). El análisis de las microfotografías del material estudiado permite considerar a la mayor parte de los cuerpos densos como lisosomas y a los liposomas (inclusiones lipídicas o gotas de grasa) como cuerpos residuales. Se constató la presencia de estadios intermedios o de transición (fagolisosomas), característicos de los procesos de degradación intracelular, que todavía no han sido descritos en condiciones fisiológicas en este material y que puede representar un aporte significativo para la comprensión histológica básica y la investigación en el campo de la neuroendocrinología comparada.

PAPEL DE LOS CANALES DE CALCIO TIPO L EN EL FENOTIPO DEL RATON WLD^S. Role of L-type calcium channels in WLD^S mouse phenotype. Benavides,E.[#],Miranda, M.[+] y Alvarez, J.[#]Unidad de Neurobiología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile[#] y ICBM; Facultad de Medicina, Universidad de Chile.[+] Santiago, Chile. Proyecto Fondecyt 2990077

Al seccionar o atricionar los axones se produce entrada de calcio al axoplasma. La principal ruta de entrada de calcio es mediada por la activación de canales de calcio voltaje-dependientes. La cepa de ratón Wld^s presenta una degeneración walleriana retardada en respuesta a la transección del nervio ciático. Estudiamos si, en esta cepa, existe alguna alteración en la entrada de calcio al citoplasma y su relación con los canales de calcio tipo L.
Cultivos de neuronas de hipocampo de ratones Wld^s y controles (C-57/BL), se incubaron con Fluo-3, un colorante calcio-sensible, evaluándose los cambios de fluorescencia con microscopía confocal. Las células se incubaron con un antagonista de canal L, nifedipino 5μM y con un agonista, BAY K8644 1μM, induciendo su depolarización con KCl 20 mM.
Con KCl, las células controles aumentaron 30% su fluorescencia, mientras que las células Wld^s apenas aumentaron 6%.Con el agonista, los controles aumentaron su fluorescencia 122%, sin observarse cambios significativos en la cepa Wld^s. Con el antagonista se observó una reducción de la respuesta en un 30% en los controles, sin variación en la cepa Wld^s.
Estos resultados indican que el fenotipo de la cepa Wld^s estaría relacionado con una alteración funcional de los canales de calcio tipo L.

DIFERENTE REGIONALIZACION DE ISOFORMAS DE RECEPTORES OPIOIDES EN LA SUPERFICIE DE CELULAS MDCK TRANSFECTADAS. (Different regionalization of isoforms of opioid receptors in transfected MDCK cells). Sánchez, F.; Soza, A.; Bravo, M.; González, A. Dpto. Inmunología Clínica y Reumatología, Fac. de Medicina y Dpto. Biología Celular y Molecular, Fac. Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica. Patrocinante: Dra. Claudia Metz.

Los receptores opioides mu, delta y kappa se expresan predominantemente en sistema nervioso central, pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a proteína G, y se diferencian en sus propiedades farmacológicas, unión a ligando, distribución en sistema nervioso central, y secuencia, especialmente de la segunda y tercera asa extracelular y de los extremos amino y carboxilo terminal. La inmunohistoquímica ha mostrado a los receptores mu y delta en regiones presinápticas. Con el fin de estudiar los mecanismos moleculares de regionalización de estos receptores en dominios específicos de la membrana plasmática hemos utilizado el modelo de las células epiteliales MDCK polarizadas, en el cual la segregación apical y basolateral se ha homologado a la axonal y dendrítica de numerosas proteínas. Hemos observado que los receptores mu y delta tendrían una distribución predominantemente apical, en contraste con el receptor kappa que parece más basolateral, al ser expresados en experimentos de transfección en células MDCK. Además de la relevancia funcional de esta distinta distribución, la homología del 70% de estas isoformas permitirá identificar elementos estructurales involucrados en la regionalización dominio específica de proteínas de membrana plasmática.
(Fondecyt: 1980974, 2990026, 3990016 y Cátedra Presidencial en Ciencia).

HISTONA H1.3 ES UN LIGANDO ENDOGENO DE PROTEOGLICANES DE HEPARAN SULFATO EN LA MATRIZ EXTRACELULAR DE MIOTUBOS. (Histone H1.3 is an endogenous ligand for heparan sulfate proteoglycans in myotube extracellular matrix). Henríquez, J.P. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinante: E. Brandan).

En la búsqueda de ligandos endógenos para proteoglicanes de heparán sulfato (PGHSs) en la línea celular muscular C_2C_{12}, hemos descrito la presencia de un doblete de 33-30 kDa (p33/30) con afinidad por [^{35}S]-heparina. Ensayos de unión de PGs totales a p33/30 inmovilizada sugieren que el doblete se une a glipicán, un PGHS presente tanto en la membrana plasmática como en la matriz extracelular (MEC). Además, determinamos que una fracción enriquecida en p33/30 promueve tanto la adhesión como la proliferación de mioblastos C_2C_{12}. El objetivo de este trabajo es determinar la identidad y localización subcelular de p33/30. Análisis MALDI-MS mostraron que el perfil de digestión de p33 correspondía a Histona H1. Microsecuencia N-terminal arrojó un 100% de identidad con la variante H1.3. Mediante marcación con biotina y extracción lavando la monocapa celular con PBS-heparina se observó un doblete de 33-30 kDa marcado, sugiriendo su localización extracelular. Extractos similares analizados mediante overlay con [^{35}S]-heparina sugieren que Histona H1.3 aumenta en el espacio extracelular durante la diferenciación muscular. Utilizando un anticuerpo comercial pudimos determinar la localización de histona H1 tanto en el núcleo como en la MEC de miotubos, donde colocaliza con glipicán.
FONDECYT 2980049(JPH); 1990151(EB). EB, C. Presid.; JPH, bec. CONICYT.

CANALES DE CLORURO Y DE OSMOLITOS ORGÁNICOS OSMOSENSIBLES EN CÉLULAS EPITELIALES (Volume-sensitive chloride and organic osmolyte channels in epithelial cells).
Stutzin, A., Sepúlveda, F.V., Cid, L.P., Torres, R.T. ICBM, Facultad de Medicina Universidad de Chile, Santiago, Chile y Centro de Estudios Científicos de Santiago, Santiago, Chile.

Los canales iónicos son importantes en mediar el transporte transepitelial de electrolitos y fluído, y participan además en los procesos de ajuste regulado del volumen celular. Hemos estudiado los canales aniónicos responsables de este último proceso utilizando trazadores radioactivos, técnicas electrofisiológicas y mediciones del volumen celular.
Como respuesta a un aumento osmótico del volumen celular, las células epiteliales HeLa responden activando una permeabilidad a taurina (medida como eflujo de [^{3}H]-taurina) y un canal selectivo a Cl^- con características de un rectificador de salida. La remoción del Cl^- extracelular o su reemplazo por un anión menos permeante, aumenta el eflujo de taurina pero disminuye la corriente de entrada de Cl^- (eflujo de Cl^-). Por otra parte, el reemplazo con aniones más permeantes por el canal activado por aumento del volumen celular, tales como I^- o SCN^-, inhibe la permeabilidad osmosensible a la taurina. El grado de deactivación de la corriente de Cl^- a potenciales despolarizados también es dependiente del anión externo. Estos resultados sugieren que el Cl^- externo es un factor importante en la regulación del *gating* del canal. En consecuencia, estos resultados muestran un efecto opuesto de los aniones extracelulares sobre la permeabilidad a la taurina y al Cl^- dependientes del aumento del volumen celular. Por otra parte, DIDS (un inhibidor del canal de Cl^-) muestra una potencia distinta para inhibir el eflujo de taurina y la corriente de Cl^-.También hay diferencias en el curso temporal entre el eflujo de taurina y el eflujo de ^{125}I, utilizado como marcador de la permeabilidad al Cl^-.La conductancia a cloruro (G_{Cl}), inferida en células intactas como cambios de volumen limitados por G_{Cl}, se desarrolla rápidamente luego del insulto osmótico. El influjo de taurina es capaz de contrarrestar la disminución regulada de volumen dependiente de la conductancia a cloruro solamente ~4 minutos después de gatillada la hinchazón celular. Este efecto inducido por la taurina extracelular se bloquea por DIDS sin efecto aparente sobre G_{Cl}. En su conjunto, estos experimentos indican, al igual que los experimentos con los trazadores, que la conductancia al Cl^- se desarrolla más precozmente que la permeabilidad a la taurina.
En conclusión, las diferencias en el curso temporal, sensibilidad a aniones extracelulares y bloqueo por DIDS indican que las permeabilidades a la taurina y al Cl^- activadas por aumento del volumen celular corresponden a entidades diferentes.
Fondecyt 1970244 y 1980718

CGRP INDUCE LA EXPRESION Y LA TRANSCRIPCION DEL GEN DE LA ACETILCOLINESTERASA EN CULTIVOS DE MIOTUBOS DE RATA, PERO NO EN PRESENCIA DE MOTONEURONAS. (CGRP increases the expression and transcription of the acetylcholinesterase in cultured rat myotubes but not in the presence of motoneurons)
Aldunate, R. [1]y Koenig[2], J. Depto. de Biología Celular y Molecular, PUC, Santiago; [2]Laboratoire de Neurobiologie Cellulaire, Université Bordeaux II. Francia.

CGRP es un neuropéptido que se ha reportado como un factor presente en la unión neuromuscular y que en cultivo de miotubos de pollo es capaz de regular ciertos componentes de la región postsináptica como el receptor de la acetilcolina. En este trabajo se reporta que este péptido en sistemas de cultivo primario de miotubos de rata induce la expresión de todas las formas moleculares de la enzima acetilcolinesterasa, en particular aquella implicada en la unión neuromuscular. Esta inducción se verificó tanto a nivel de su expresión proteica como a niveles de su mRNA, en ambos casos se alcanzan valores que duplican los niveles de células controles. El efecto de CGRP puede ser inhibido cuando los miotubos son cultivados en presencia de motoneuronas, así como cuando se depolarizan los miotubos. Estos resultados permiten sugerir que CGRP participaría en la diferenciación temprana de la membrana postsináptica durante el desarrollo de la unión neuromuscular. Este trabajo fue financiado por FONDECYT N° 2980048 (R.A.) y una Cátedra Presidencial en Ciencias (N.C.I.)

INFLUENCIA DEL ESTRES HIPOGLICEMICO SOBRE LA RESPUESTA DE CALCIO INDUCIDA POR EL AβP[1-40] Y CARBAMILCOLINA (Hypoglycemic stress alters intracellular Ca^{2+}-rise evoked by AβP[1-40]and Carbachol)
Brito, J. y Rojas, E. Laboratorio Neuroendocrino. Departamento de Morfología. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Patrocinio: Eduardo Rojas.

El péptido amiloide 1-40 (AβP[1-40]), es un componente principal de los depósitos extracelulares encontrados en cerebros de pacientes con Enfermedad de Alzheimer (EDA). La alteración fisiopatológica característica de la EDA es una depresión marcada del sistema colinérgico en el cerebro. A escala molecular, esta depresión puede relacionarse con la capacidad del AβP[1-40] de incorporarse a membranas celulares.
Para verificar esta relación, se estudió la interacción entre el AβP[1-40] y células 1321N1 cargadas con una sonda fluorescente para detectar Ca^{2+} (Indo-1). Los resultados muestran que el AβP[1-40] aumenta considerablemente la $[Ca^{2+}]_i$. Además, se encontró que el incremento de la $[Ca^{2+}]_i$ evocado por el AβP[1-40] fue mayor en células deprivadas de glucosa que en las incubadas con ella. Por otra parte, se estudió la posible modulación por parte del AβP[1-40] sobre la respuesta a carbacol. Se observó que la respuesta a carbacol fue disminuida en células pretratadas con AβP[1-40], tanto en presencia como en ausencia de glucosa. Por otro lado, el incremento de la $[Ca^{2+}]_i$ evocado por AβP[1-40] en células pretratadas con carbacol fue alterado significativamente dependiendo si las células eran incubadas con o sin glucosa.
Este estudio sustenta la hipótesis de que el AβP[1-40] desacopla la respuesta colinérgica-muscarínica, particularmente en células metabólicamente estresadas, y que además, su efecto celular es modulado por la actividad colinérgica-muscarínica.

EFECTO DE COBRE EN LA FORMACION DE FIBRAS DE AMILOIDE (Copper effect in amyloid fibril formation).
Opazo C. y Vázquez M.C. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: E.O. Campos).

La enfermedad de Alzheimer (EA) es caracterizada por la presencia de depósitos de péptido β-amiloide (Aβ), neurodegeneración y daño oxidativo en regiones del cerebro asociadas a procesos de memoria y aprendizaje. Recientemente se ha descrito la presencia de metales de transición en los depósitos de amiloide, los cuales podrían contribuir al daño oxidativo observado en la EA. El cobre podría también aumentar la toxicidad de las fibras de Aβ acelerando su formación. En el presente trabajo se estudió el efecto de cobre sobre la formación de amiloide. La agregación del péptido Aβ fue monitoreada por la turbidez a 400 nm. Los agregados fueron estudiados por microscopía electrónica de transmisión y microscopía de luz polarizada. Se caracterizó también la resistencia a proteasas. Los agregados de amiloide formados son congofílicos y presentan birrefringencia a la luz polarizada. Además estos agregados son resistentes a la acción de proteasas. Interesantemente la presencia de cobre en los ensayos de agregación disminuye el tamaño de las fibras de amiloide. Nuestros resultados indican que el cobre acelera la formación de fibras de amiloide, las que poseen un tamaño menor que las fibras formadas espontáneamente.
Financiado por FONDECYT 2990087 a C.O., CIMM-ICA/006 y Cátedra Presidencial en Ciencias al Dr. Nibaldo C. Inestrosa.

BIOQUIMICA V

CINETICA DE ASOCIACION Y DISOCIACION DE LA UNION DE CALCIO A CALSECUESTRINA. (Association and dissociation kinetics of calcium binding to calsequestrin).
Beltrán, M. e Hidalgo, C. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y CECS, Santiago, Chile.

La calsecuestrina, una proteína soluble del lumen del retículo sarcoplasmático (RS) de músculo esquelético y cardíaco, une calcio con alta capacidad (50 moles/mol) y afinidad moderada (Kd ≈ 1mM); al unir calcio, cambia marcadamente su conformación y aumenta su contenido de hélice alfa. Por estas características, la calsecuestrina actúa como tampón de calcio en el lumen del RS, aumentado su capacidad de almacenamiento. Se ha sugerido, además, que la calsecuestrina participa en la regulación de la liberación de calcio desde el RS, que tiene un $t_{1/2}$ de ≈ 20 ms. Para evaluar la cinética de asociación y disociación de la unión de calcio a calsecuestrina en solución, y la de los cambios conformacionales asociados, realizamos experimentos en un espectrofluorómetro de flujo detenido. Se utilizó OregonGreen-488-BAPTA5N como indicador fluorescente de calcio, y se evaluaron los cambios conformacionales midiendo la fluorescencia intrínseca de la proteína, que aumenta cuando une calcio por internalización de grupos triptófanos. La disociación y la asociación del calcio ocurrieron en tiempos mucho más cortos que los cambios conformacionales, con $t_{1/2}$ de 44 mseg y 20 mseg, respectivamente. Los cambios conformacionales tuvieron un $t_{1/2}$ de 7,8 seg para la disociación de calcio, y de 4,2 seg para la asociación. En el interior del RS la disociación del calcio de la calsecuestrina podría ser más rápida que en solución, alcanzando valores comparables a los de la liberación, por efectos cooperativos sobre la calsecuestrina misma o por participación de otras proteínas del RS en este proceso.
Financiado por Proyectos FONDECYT 2970017 y 8980009.

EPINEFRINA PRODUCE AUMENTOS DE LA [Ca^{+2}] INTRACELULAR EN CELULAS DE MUSCULO ESQUELETICO (Epinephrine may trigger intracellular [Ca^{+2}] increase in skeletal muscle cell).
Barrera A, Estrada M, Jaimovich E, Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Patrocinio: Estrada M.

En músculo esquelético adulto se ha determinado la presencia de receptores β_2-adrenérgicos, los que actuarían a través de adenilato ciclasa y AMPc. Además, en diversos modelos celulares agonistas adrenérgicos producen aumentos de la concentración de Ca^{2+} intracelular ([Ca^{2+}]i). En este trabajo estudiamos los efectos de epinefrina sobre la [Ca^{2+}]i en células de músculo esquelético de rata en cultivo primario. Fluo-3AM, un colorante fluorescente, fue usado para monitorear los cambios en la [Ca^{2+}]i. Las células fueron montadas en cubreobjetos y cargadas fluo-3 AM. Las imágenes fueron adquiridas con un microscopio de epifluorescencia Olympus T041 equipado con una cámara CCD enfriada. Epinefrina (0.5 a 20 μM) produce aumentos transitorios de la [Ca^{2+}]i en miotubos caracterizadas por oscilaciones y propagación de ondas de Ca^{2+} a través de la célula. Estos efectos son dependientes de la concentración de la hormona y medios libres de Ca^{2+} externo (1mM EGTA) modifican la señal, pero no la inhiben. El análisis de las imágenes muestra que, al parecer, el aumento relativo de la intensidad de fluorescencia en los núcleos fue mayor que en el citosol. Se concluye que algunos efectos de epinefrina en el músculo esquelético podrían estar relacionados con la modificación de la [Ca^{2+}]i, ya sea a través de la modulación de canales de Ca^{2+} y/o almacenes de Ca^{2+} intracelular.
Proyecto Fondecyt N° 8980010.

COMPARTIMENTACION METABOLICA EN LA SINTESIS DE GLICOGENO EN OOCITOS DE ANFIBIO. (Metabolic compartmentation in glycogen synthesis in amphibian oocytes).
*Kessi, E., (Preller, A. y Ureta, T. *Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias y Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los oocitos de rana estadio VI metabolizan la glucosa preferentemente hacia la síntesis de glicógeno, utilizando tanto la vía directa como la indirecta. La operación de una u otra vía depende de la concentración de glucosa administrada. Estudios de dilución isotópica en oocitos in vivo muestran la presencia de al menos dos conjuntos inmiscibles de glucosa-6-P que se metabolizan, independientemente, uno por la vía directa y otro por la vía indirecta. De igual modo hemos demostrado la existencia de dos conjuntos inmiscibles de lactato: lactato generado endógenamente a partir de glucosa está destinado a formar glicógeno por gluconeogénesis, mientras que el lactato exógeno microinyectado es degradado a CO2 en el ciclo de Krebs y no se incorpora en glicógeno. Por otra parte, los gránulos de glicógeno en el oocito intacto se acumulan de preferencia en el córtex celular y en la región perinuclear. Sin embargo, experimentos de autorradiografía sugieren que la síntesis de novo no ocurre en la corteza celular, sino más bien en la zona perinuclear y en el resto del citoplasma. Estos resultados sugieren que la vía de síntesis de glicógeno en oocitos ocurre en lugares discretos de la célula, que está finamente estructurada y presenta un alto grado de compartimentación metabólica. Financiado por Fondecyt, 1970216.

PRESENCIA DE LAS QUINASAS DE DIACILGLICEROL Y FOSFATIDILINOSITOL EN VESICULAS DE TRIADAS DE MUSCULO ESQUELETICO DE MAMIFERO. (Diacylglycerol kinase and phosphatidylinositol kinase activities in skeletal muscle triads).
Barrientos, G. e Hidalgo, C. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y CECS, Santiago, Chile.

Se fosforilaron vesículas de triadas aisladas desde músculo esquelético de conejo con [γ-^{32}P]-ATP a distintas concentraciones de calcio libre y ATP 1mM final. La reacción fue detenida a distintos tiempos con HCl 1N, seguido de cloroformo/metanol (1:1/v:v). Posteriormente se separaron las fases orgánica y acuosa secándose la primera bajo corriente de N_2. Los fosfolípidos de la fase orgánica fueron analizados por cromatografía en capa fina (HPTLC). Los distintos fosfolípidos fueron identificados comparando su movilidad con la de estándares. Los fosfolípidos marcados radioactivamente fueron detectados por medio de autorradiografías marcando su posición; las manchas así detectadas fueron raspadas y contadas en líquido de centelleo, utilizando un contador de centelleo líquido. Los resultados de este procedimiento, sugieren que las quinasas que producen ácido fosfatídico, fosfatidilinositol mono y bisfosfato serían reguladas por la concentración de calcio libre y por la presencia o ausencia de la proteína anexina VI que se une a fosfolípidos negativos en forma dependiente de calcio.
Financiado por FONDECYT 8980009.

RECEPTORES GM-CSF DE ALTA AFINIDAD SEÑALIZAN UN AUMENTO DE LA CAPTACION DE VITAMINA C EN ESPERMATOZOIDES (High-affinity GM-CSF receptors signal an increased vitamin C uptake in spermatozoa). Zambrano, A., Werner, E., Brito, M., y Concha, I.I. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Los factores estimuladores de colonias como GM-CSF producen un aumento de la captación de glucosa y vitamina C en neutrófilos y monocitos mediado probablemente por cambios en la actividad funcional de los transportadores facilitativos de hexosas (GLUTs). Los receptores de GM-CSF se expresan en células hematopoiéticas y también en algunos tejidos como oligodendrocitos y células tumorales. Existe evidencia que GM-CSF puede estimular el crecimiento de células tumorales, sin embargo no se conoce el papel fisiológico de estos receptores en tejidos no hematopoiéticos normales o neoplásicos.
En este trabajo se estudió la expresión y función del receptor GM-CSF en espermatozoides. Por medio de RT-PCR se demostró en testículo humano la expresión de los mRNA que codifican para las subunidades alfa y beta del receptor y se confirmó la presencia de ambas proteínas por inmunodetección e inmunolocalización. Ensayos de unión con el factor iodinado revelaron que los espermatozoides presentan sitios de alta afinidad con Kd de 200 pM, y de baja afinidad con Kd de 9 nM. GM-CSF unido a su receptor señaliza un aumento de la captación de vitamina C dependiente del tiempo y de la concentración. La presencia del receptor GM-CSF en células germinales masculinas y la habilidad del factor de estimular el transporte de vitamina C como el de hexosas en espermatozoides puede estar íntimamente relacionado con el proceso de fecundación.
(FONDECYT 199-0994).

EFECTO DE COLESTEROL EN LAS PROPIEDADES DE LA FASE LIPIDICA Y LA ACTIVIDAD DE LA BETA-HIDROXIBUTIRATO DESHIDROGENASA EN VESICULAS UNILAMELARES Y EN MEMBRANAS DE MITOCONDRIAS DE CORAZON DE BOVINO. (Cholesterol effect on lipid phase and beta-hydroxybutyrate dehydrogenase activity in unilamellar vesicles and in bovine heart mitochondrial membranes). Valencia P., Sotomayor C. y González G. Instituto de Química, Facultad de Ciencias Básicas y Matemáticas, Universidad Católica de Valparaíso.

La presencia de colesterol en la membrana plasmática de las células animales modifica las propiedades de la fase lipídica aumentando la movilidad rotacional y translacional de los lípidos en estado gel y disminuyéndola en la fase líquido-cristalina. Se cree que la incorporación de colesterol modularía las propiedades de la fase lipídica alterando la actividad de las enzimas asociadas a membranas. En este trabajo se estudió el efecto de colesterol sobre las propiedades de la fase lipídica y la actividad de la beta-hidroxibutirato deshidrogenasa de la membrana mitocondrial.Se realizaron medidas de polarización de fluorescencia de sondas que se ubican a diferentes profundidades de la bicapa para obtener información acerca de la movilidad de los lípidos. Se encontró que la incorporación de colesterol produce un aumento progresivo en el orden de empaquetamiento de los lípidos y una disminución progresiva de penetración de agua en la interfase hidrofílica-hidrofóbica. La máxima actividad de la beta-hidroxibutirato deshidrogenasa se encuentra a valores intermedios de incorporación de colesterol.
Financiamiento: FONDECYT 1971165

GLUCOSA-6-P DESHIDROGENASA DE OOCITOS DE ANFIBIO, SITIO DE CONTROL DEL FLUJO DE GLUCOSA POR LA VIA DE LAS PENTOSAS-P. (Glucose-6-P dehydogenase in amphibian oocytes is the major control site for glucose flux through the pentose-P pathway). Guerrero, C., Retamal, M. y Preller, A. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La operación de la vía de las pentosas fosfato está controlada fundamentalmente por la glucosa-6-P deshidrogenasa (glc-6-P-DH). En oocitos de rana estadio VI, sólo un 5 % de la glucosa es metabolizada por esta vía, en parte por el desfavorable cuociente NADP+ / NADPH. Sin embargo, se desconoce si la glc-6-P-DH de oocitos es inhibida por NADPH, como es el caso en varias especies. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la glc-6-P-DH de oocitos, con énfasis en la inhibición de la enzima por NADPH. Estudios en extractos semipurificados mostraron que la enzima sólo utiliza glucosa-6-P como sustrato y su actividad es máxima entre pH 8 y 9. Los valores de K_m calculados para glucosa-6-P y NADP+ fueron 40 y 2 μM, respectivamente. La enzima es inhibida competitivamente por NADPH (I_{50} = 60 μM). Luego, a las concentraciones intracelulares de NADPH del oocito (80 uM), la enzima estaría muy inhibida. Podemos concluir entonces que el escaso flujo de glucosa por la vía de las pentosas-P en oocitos se debe, además de la baja disponibilidad de NADP+, a la inhibición de la enzima por NADPH. Financiado por Fondecyt, 1970216.

CARACTERIZACIÓN DEL EFECTO CITOTÓXICO DE LA MICROCINA E492 SOBRE VARIAS LÍNEAS CELULARES. (Characterization of the cytotoxic effect of microcin E492 on different cellular lines). Hetz C., Bono M.y Barros F.* Universidad de Chile, Facultad de Ciencias, Facultad de Medicina Norte*, Casilla 653, Santiago, Chile.

Las microcinas pertenecen a una familia de antibióticos polipeptídicos de bajo peso molecular producidas y secretadas por miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. La microcina E492 es un antibiótico de Mr 6.000 producido por *K. pneumoniae* RYC492. Su mecanismo de acción consiste en la depolarización de la membrana de bacterias sensibles como *E. coli*, induciendo la formación de un poro en la membrana citoplasmática. *K. pneumoniae* es uno de los patógenos bacterianos más frecuentes encontrados en infecciones a los tractos pulmonares y urinarios. En este trabajo se caracteriza el efecto citotóxico de la microcina E492 sobre tres líneas celulares: HeLa, Hep G2 y Ramos. Mediante citometría de flujo encontramos que las células HeLa y Hep G2 resultaron sensibles ante el efecto letal de la microcina E492 transcurridas las 18 hrs de incubación, observando un porcentaje de viabilidad celular de 17 y 40% respectivamente, efecto dependiente de la dosis. Las células Ramos no mostraron sensibilidad frente a la toxina, indicando que el fenómeno obedece a cierta especificidad. Hemos observado severos cambios en el estado de condensación de la cromatina y morfología celular, características similares al fenotipo descrito por la inducción de apoptosis.
Proyecto Fondecyt 1991017

ECOLOGIA III

ENERGETICA DE LA EXPLOTACION DE PARCHES EN *Octodon degus* (RODENTIA: OCTODONTIDAE) (Energetics of patch explotation in *Octodon degus* (rodentia: octodontidae).

Opazo J.C[1]. Vásquez R.A[2] & Bozinovic F[1]. [1]Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile, [2]Departamento de Ciencias Ecológicas, Universidad de Chile.

En este trabajo se evaluó la energética de forrajeo, específicamente la de explotación de parche en el roedor diurno *Octodon degus*. En una cámara metabólica con arena y semillas de girasol se cuantificó simultáneamente la actividad de forrajeo a través de filmaciones y el gasto de energía (J/min) en un respirómetro de flujo abierto dejando al animal en el parche por distintos periodos de tiempo. Los resultados muestran que el balance de energía se hace cada vez más negativo a medida que aumenta el tiempo de forrajeo en el parche (r=0.72, P=0.028). Esto pues a medida que transcurre el tiempo es más difícil encontrar el alimento por lo que se gasta más energía para obtener como retorno una cantidad similar que las veces anteriores. Además el número de semillas dejadas en el parche (GUD) disminuye a medida que el gasto de energía aumenta (r=0.64, P=0.038). Con estos resultados se estimó en 107 min el tiempo en el que el animal debe abandonar el parche, ya que el balance energético se hace 0. Nuestros resultados de energética de explotación (entre 14.3 y 250.6 J/min) son menores que lo esperado según alometría (348.6 J/min). Se discuten los resultados en el contexto de la teoría de forrajeo.
Proyecto FONDECYT 1980959. JCO es becario Conicyt.

PATRONES DE RESPUESTA A LA PERTURBACION HUMANA SOBRE LA COMUNIDAD INTERMAREAL, DESDE UN ENFOQUE MULTIVARIADO. (A multivariate approach to response patterns of the intertidal communitu to human perturbation).

Jorge Guerra M. y Carlos A. Moreno. Instituto de Ecología y Evolución. Universidad Austral de Chile

El objetivo del presente estudio se enmarca en la necesidad de determinar cuáles son las variables comunitarias que se ven afectadas por actividades de recolección y de qué forma el enfoque multivariado se establece como una herramienta válida en la verificación de algunos de los patrones que caracterizan situaciones de intervención antropogénica.
Se estudió la comunidad intermareal en 18 localidades comprendidas entre los 38°20'33.7"S y 41°48'35.3"S. En cada localidad se efectuaron transectos perpendiculares para la caracterización de la comunidad intermareal, considerando situaciones de frente expuesto y protegido, en un gradiente de intervención humana. La plataforma de trabajo incorpora el Análisis de Componentes Principales para investigar el comportamiento de las variables (especies) sobre el gradiente de impacto. A partir del análisis de la información recopilada, se verificaron algunos de los patrones, entre los que se cuentan: Alta cobertura de *Mazzaella laminarioides*, *Ulva* spp. y *Perumytilus purpuratus* en la zona intermareal media de playas rocosas protegidas y semiprotegidas; presencia de *Durvillaea antarctica* sólo en el intermareal bajo de los frentes expuestos; espacio entre las grandes algas pardas del intermareal bajo con alta cobertura de algas rojas y otras efímeras, así como una muy baja cobertura de algas calcáreas. Los resultados proporcionan una categorización de los sitios, la que resultó altamente consistente con la apreciación subjetiva del impacto.
Por último, se resalta la validez de este tipo de enfoque exploratorio donde se revelan estructuras subyacentes en los datos bajo la forma de patrones de asociaciones y diferencias, las que deben ser objetivadas con la puesta a prueba de hipótesis específicas, en la búsqueda de factores causales.
Trabajo financiado por el Proyecto FONDAP Programa mayor N°3.

OSMOREGULACION Y FLEXIBILIDAD ECOLOGICA EN *Cinclodes* (Osmoregulation and ecological flexibility in *Cinclodes*)

Sabat, P. Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Casilla 114-D, Santiago, Chile. E-mail: psabat@genes.bio.puc.cl

Para las aves, uno de los ambientes más estresantes desde el punto de vista de la mantención del balance hidro-salino, es el ambiente salobre. Aquellas aves que han colonizado ambientes salobres poseen una glándula de la sal, que les permite eliminar el exceso de sales. La ausencia de una glándula de la sal funcional en grupos no marinos, como paseriformes, debiera traducirse en una restricción fisiológica para explotar ambientes salobres. El objetivo de este estudio es explorar las adaptaciones a ambientes salobres, en tres especies del género *Cinclodes* (Paseriformes: Furnaridae) de marcadas diferencias ecológicas. Para ello se determinó el peso, estructura y capacidad de concentración del riñón, la tolerancia fisiológica (osmolaridad del plasma) y la carga salina (osmolaridad del contenido estomacal), en individuos de dos localidades: marina y límnica. La carga salina es mayor en la especie estrictamente marina, pero nunca excede la salinidad ambiental. La osmolaridad del plasma es mayor en las poblaciones marinas. Paralelamente, el peso y la proporción de medula del riñón son mayores en la especie marina, y se correlacionan positivamente con la osmolaridad de la orina. Aparentemente, las especies y poblaciones marinas del género *Cinclodes* basarían su éxito en la selección de presas hipoosmóticas, así como de la posesión de un riñón más eficiente y/o una tolerancia fisiológica mayor.
Financiado por FONDECYT 3980027

EXPLOTACION DE PARCHES Y EFICIENCIA DE FORRAJEO EN DOS AVES ICTERINIDAS. (Patch exploitation and foraging efficiency in two icterinid birds).

Cecchi, C. & Vásquez, R.A. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago.

Utilizamos herramientas conceptuales de la teoría de uso de parches para analizar experimentalmente dos componentes de la conducta de forrajeo (eficiencia de búsqueda y tiempo de manipulación), en dos aves comunes de Chile central, *Sturnella loyca* (loica) *y Curaeus curaeus* (tordo). La eficiencia de búsqueda es una medida de la capacidad de encuentro con ítemes de presa, y el tiempo de manipulación es el tiempo que lleva consumir una presa entre su captura y su ingesta. Realizamos experimentos de laboratorio para evaluar la función de ganancia de loicas y tordos en parches con cantidades iniciales conocidas de alimento. Los experimentos fueron video-grabados para analizar posteriormente las capturas de presas y el tiempo de forrajeo. Ambas especies experimentaron funciones de ganancia desacelerantes, i.e., retornos menores a medida que aumenta el tiempo de explotación. Ambas especies mostraron diferencias en su eficiencia de búsqueda y tiempo de manipulación de recursos. Estas diferencias indican posibles estrategias de forrajeo contrastantes, así como distintos costos de explotación en diversos microhábitats. Menores tiempos de manipulación implicarían una mayor eficiencia de forrajeo, particularmente cuando los parches de alimento contienen altas densidades de recursos. Futuras comparaciones deberían corregir posibles discrepancias ocasionadas por las preferencias dietarias de las especies.
(FONDECYT 1990049)

VARIACIONES ESPACIALES DE LA ESTRUCTURA DEL ENSAMBLE DE PECES EN EL ESTERO NONGUEN (VIII REGION). (Spatial variations in fish assemblage structure of the Nonguén stream. VIII Región). Habit, E.[1y2], Victoriano, P.[3], Zamorano, E.[1]. [1]Facultad de Ciencias, Universidad del Bío-Bío, Cas. 5-C, Concepción. [2]Centro EULA. Universidad de Concepción, Concepción. [3]Dpto. Zoología, Universidad de Concepción, Concepción.

El Estero Nonguén conforma una pequeña subcuenca costera en el curso inferior del río Andalién, con una marcada diferencia entre su zona alta cubierta de vegetación nativa y bajo grado de antropización, y su zona media-inferior densamente poblada, con fuertes evidencias de contaminación por desechos urbanos y aguas servidas. A pesar de este deterioro, se ha reportado la presencia de 7 especies nativas en su tramo inferior (Ruiz, 1993). Para analizar si existen patrones ictiofaunísticos atribuibles a la alteración mencionada, se realizaron muestreos en diferentes puntos a lo largo del estero, registrando además parámetros de calidad del agua y variables de estructura del hábitat.
El estero presentó una alta riqueza de especies nativas (10 de 12), con dominancia de salmonídeos en la zona ritral. La biomasa total disminuyó significativamente en el sentido de la corriente, lo que queda explicado por la disminución de *Salmo trutta* y *Oncorhynchus mykiss* y por variables estructurales del hábitat y del entorno (vegetación acuática, sustrato, grado de urbanización). El número de individuos aumentó aguas abajo, debido a la presencia de especies nativas de pequeño tamaño en la zona potamal (*e.g. Basilichthys australis, Bullokia maldonadoi, Percilia irwini*), lo cual se relacionó principalmente con parámetros de calidad del agua (oxígeno disuelto, TDS, conductividad, temperatura). Esto sugiere que los diferentes taxa responden a distintos factores ambientales, lo cual debe ser considerado en el análisis de impactos que se generan en el medio acuático.
Proyecto Diprode 990407 2, Universidad del Bío-Bío.

VARIACIONES TEMPORALES EN LA COMPOSICION Y ABUNDANCIA DE DOS ENSAMBLES DE PECES SUBMAREALES EN LA COSTA NORTE DE CHILE: UN ENFOQUE TROFICO.(Temporal variations in the composition and abundance of two subtidal fish assemblages of the northern coast of Chile: a trophic approach.)Angel A. Dpto. de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago.

La composición y abundancia de los ensambles de peces submareales son determinadas de manera importante por factores de expresión a escala local, tales como la estructura del substrato, la presencia o ausencia de praderas de macroalgas y variables ambientales. Estos factores sujetos a variaciones estacionales e interanuales se expresan directamente en la organización trófica de los ensambles. El objetivo del presente trabajo fue analizar las variaciones temporales en la abundancia, composición y organización trófica de los ensambles de peces submareales presentes en dos localidades de la zona norte de Chile, Caleta Errázuriz(23°S) y Carrizal Bajo(28°S). Los resultados muestran diferencias significativas en la abundancia y composición de especies de ambas localidades, además de presentar importantes variaciones estacionales de las abundancias. En términos de organización trófica, el ensamble de Carrizal Bajo, presentó escasas variaciones temporales. En Caleta Errázurriz, sin embargo, el ensamble presentó importantes variaciones estacionales, dadas principalmente por un aumento en la abundancia relativa de especies carnívoras durante el invierno. Se contrastan estos resultados con estudios anteriores y con información relativa a las diferencias en la expresión de factores de influencia local.
(Financió FONDAP O & BM3)

REGENERACION DE *Astrocaryum gratum* (PALMAE) EN BOSQUES FRAGMENTADOS (Regeneration of *Astrocaryum gratum* (Palmae) in fragmented forests). Simonetti, J.A.[1], Bustamante, R.O.[1], Moraes, M.M.[2] y Grez, A.A.[3] [1]Facultad de Ciencias y [3]Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago y [2] Herbario Nacional, La Paz, Bolivia.

La reducción de las poblaciones de mamíferos en ambientes fragmentados se traduciría en menores tasas de granivoría y herbivoría. Esta hipótesis la contrastamos analizando experimentalmente la sobrevivencia de semillas y plántulas de *Astrocaryum gratum* en bosques fragmentados del Beni, Bolivia. Mediante experimentos naturales y de campo estudiamos la tasa de remoción de semillas por mamíferos grandes y la frecuencia de ataques de semillas por brúquidos tanto en fragmentos de bosque como en un bosque continuo. De igual forma, estudiamos la sobrevivencia y reclutamiento de plántulas.
La depredación de semillas por mamíferos y el ataque de semillas por brúquidos es mayor en el bosque continuo. Sin embargo, la mortalidad de plántulas tiende a ser mayor en los fragmentos, particularmente en plántulas desprotegidas de herbívoros. El número de plántulas de *A. gratum* que reclutan es bajo y no difiere entre fragmentos y bosque continuo ni entre sitios protegidos o desprotegidos de herbívoros. La evidencia apoya parcialmente la hipótesis, con una reducción en depredadores de semillas pero no en herbívoros. La invasión de ganado podría reemplazar o aumentar el efecto de los mamíferos nativos que desaparecen al fragmentarse el bosque.
Financiado por Fondecyt 1981050, Fondecyt 7980003 y RLB Binac 98-1.

LA SUPERTRANSIENTE: DINAMICA ESPACIO-TEMPORAL EN METAPOBLACIONES.(Supertransients: spatio-temporal dynamics in metapopulations). Labra F, y Lagos N. Departamento de Ecología, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago. Patrocina: P. Marquet

La ecología contemporánea enfatiza la importancia de la estructura espacial sobre la dinámica y persistencia de las poblaciones. Modelos teóricos que consideran la dimensión espacial y migración entre subpoblaciones (estructurados espacialmente) predicen la formación de patrones de auto-organización espacial (caos espacial, ondas de viaje). Una propiedad interesante de estos modelos es que, sin mediar ningún cambio en los parámetros, la dinámica metapoblacional a largo plazo presentará transiciones hacia diferentes comportamientos cualitativos o atractores (caos, ciclos, cuasi-ciclos). Esta intermitencia en la dinámica espacio-temporal se denomina una supertransiente. Este trabajo intenta determinar la universalidad de este fenómeno. Para ello se exploró el espacio de parámetros de distintas funciones de dispersión que conectan a subpoblaciones (semélparas y sin estructura de edades), alineadas en un arreglo unidimensional. Los resultados sugieren que la ocurrencia de supertransientes es independiente de la función de dispersión utilizada. En la mayoría de los casos la dispersión altera la dinámica local, enmascarando la denso-dependencia de estas subpoblaciones, lo cual refleja que la dinámica metapoblacional no viene a ser un buen estimador de la dinámica de la subpoblación. Se discute la relevancia de los resultados en el contexto de patrones espacio-temporales registrados en la naturaleza, destacando la necesidad de realizar estudios a largo plazo y en varias subpoblaciones.
Agradecimientos: F.L. a P. Fondecyt 1990154, N.L. a beca de postgrado Conicyt.

BIOLOGIA CELULAR V

EL ZIGOTO DE LA SANGUIJUELA INCLUYE NUMEROSOS CENTROS DE ORGANIZACION DEL CITOESQUELETO (CITASTERES) ENCARGADOS DE LA ACUMULACION Y TRASLADO BIPOLAR DE ORGANELOS (The leech zygote includes numerous centers of cytoskeleton organization (cytasters) engaged in bipolar organelle translocation). Cantillana, V., Urrutia, M.,Ubilla, A. y Fernández, J. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile.

Durante la primera interfase el zigoto forma voluminosos dominios polares de citoplasma (Teloplasmas) destinados a la formación del ecto y mesodermo. Este proceso se acompaña de importantes cambios en la conformación del citoesqueleto y puede modificarse por drogas. Por tanto, interesaba dilucidar la estructura y propiedades del citoesqueleto ovular y la manera como éste participaba en la formación del teloplasma. El zigoto de *Theromyzon zonare* fue microinyectado con tubulina y/o actina fluorescente y sus mitocondrias marcadas con un mitotracker. Las propiedades dinámicas de los citásteres y mitocondrias fueron analizadas mediante videomicroscopía de tiempo fraccionado.
El zigoto forma numerosos citásteres (10-30 µm de diámetro) que se desplazan por el ectoplasma a velocidades de aproximadamente 1 µm/min, mientras sus microtúbulos y microfilamentos se ensamblan/desensamblan en forma sostenida. Las mitocondrias se acumulan en los citásteres y se desplazan junto a éstos hacia cada polo del zigoto. Se concluye que el zigoto tiene un citoesqueleto organizado en unidades, o citásteres, cuyo movimiento puede estar vinculado al ensamblaje/desensamblaje de microtúbulos y microfilamentos y/o a la actividad de motores moleculares. Claves corticales orientarían el desplazamiento bipolar de los citásteres junto a su carga.
Financiado por la Universidad de Chile: EDID 98-007 y Fondecyt 1991006.

ANULACION DEL GEN DE LA AMELOGENINA EN CELULAS EMBRIONARIAS TRONCALES (ES CELL) DE RATON. (Amelogenin gene targeting in mouse ES cell). Soto,C.,Quevedo,L.,Valdivia,R.,Katoh,M. Laboratorio Biología Molecular,Dpto.. Patología Fac.. de Odontología, Universidad de Chile.

Las células ES (Embryonic Stem Cell) derivadas del masiso interno de ratón *MusmMusculus* son pluripotenciales y constituyen una poderosa herramienta para estudio de regulación de genes en modelos animales.
El objetivo del presente trabajo es introducir mediante electroporación a las células ES un vector dirigido a la anulación del gen de la amelogenina. Este vector se construyó ligando el gen de la toxina diftérica(DTA) para selección negativa, el gen de resistencia a neomicina(neo^r) para selección positiva, y secuencias 3' y 5' del gen de la amelogenina, para facilitar la recombinación homóloga.
Se usaron células ES provenientes de la línea TT2 (CBAxC57BL/6)F1 cultivadas sobre medio DMEM suplementado con suero fetal bovino y una monocapa de fibroblastos de ratón de las cepas ICR/JCL e ICR/JCL neo^r inactivados con Mitomicina C, como células nodrizas, suplementadas con LIF para mantener su estado indiferenciado.
Se identificó la presencia del inserto en las células ES viables después de la electroporación, mediante la selección con G418 (análogo a Ganciclovir). La confirmación de las células recombinantes se realizó mediante PCR.
Estas células embrionarias se están inyectando en embriones preimplantacionales (8-células a blastocisto) para el estudio del rol del gen de la amelogenina durante la odontogénesis en ratón.

CAMBIOS EN LA POBLACION CELULAR EN RESPUESTA A MODIFICACION DE LA MATRIZ EXTRACELULAR DURANTE LA DIFERENCIACIÓN DE MIOBLASTOS C2C12 (Changes in cell population in response to extracellular matrix modification during C_2C_{12} myoblasts differentiation). Osses, N. Unidad de Neurobiología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: Wilandt, A.)

La diferenciación de mioblastos mononucleados a miotubos multinucleados es el evento final de la miogénesis. Poca atención ha recibido el hecho que desde una población homogénea de mioblastos existe una subpoblación que escapa a la diferenciación. Previamente demostramos que la ausencia de una matriz extracelular (MEC) organizada inhibe la diferenciación muscular. A fin de estudiar si la MEC tiene una función en esta heterogeneidad celular indujimos diferenciación de mioblastos en presencia de clorato, un inhibidor del ensamble de la MEC. La diferenciación muscular fue evaluada determinando la expresión de Miogenina (Myo) y actividad de Creatina Quinasa (CK). Al aislar células mononucleares presentes al día 6 de diferenciación el rendimiento fue 2 veces mayor en los cultivos tratados con clorato. Células mononucleares controles conservan una capacidad de diferenciación similar a mioblastos, medido tanto por Myo como por CK. Sin embargo, en células mononucleares tratadas con clorato no se afecta la expresión de Myo pero sí de CK. Estas células presentan una diferenciación aumentada luego de remoción del clorato. Estos resultados sugieren que la ausencia de una MEC organizada modifica la población celular y genera mioblastos que se activan más rápidamente a diferenciarse.
N.O. Fondecyt 2990088; E.Brandan C.Presidencial, Fondecyt 1990151.

FACTORES DE CRECIMIENTO, PROLIFERACION Y DIFERENCIACION EN CELULAS EPITELIALES GASTRICAS DE RATA ERG-1 (Growth factors, cell multiplication and differentiation in the ERG-1 rat gastric epithelial cell line). Nelson, P., Cabello A. y Garrido J. Depto. de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Previamente hemos descrito la caracterización de una línea celular denominada ERG-1, probablemente derivada de las células troncales responsables de la renovación del revestimiento epitelial del estómago de la rata. Estas células exhiben morfología epitelial al ser cultivadas en medio con 10% de SFB, cesando la multiplicación al establecerse una monocapa. Al cultivarlas en medio con 0,5% SFB, se establece la monocapa, pero la proliferación continúa en áreas localizadas, en las que se diferencian estructuras tubulares de aspecto glandular. Para indagar sobre los mecanismos involucrados en este proceso, hemos suplementado los medios de cultivo con factores de crecimiento. Los resultados muestran que el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) parece estimular la proliferación celular, pero inhibe la diferenciación glandular. El factor de crecimiento epidérmico (EGF) estimula tanto la multiplicación celular como la diferenciación glandular. La medición de la migración, estimada en experimentos de heridas normalizadas practicadas a cultivos de esta línea, muestra que ésta es más rápida en los cultivos mantenidos en bajo suero. lo que hace plausible la intervención en este proceso de cascadas regulatorias activadas por factores de crecimiento y que tienen como efector al citoesqueleto.
(Financiado por FONDECYT N° 1980961).

CARACTERIZACION DE LA ACTIVIDAD TIPO TRIPSINA DEL ESPERMATOZOIDE DEL CAMARON DE ROCA, *Rhynchocinetes typus*. (Characterization of Trypsin-Like activity of rock shrimp, *Rhynchocinetes typus* spermatozoa).

Bustamante E.; Palomino J.A.; Amoroso A. y Barros C. Laboratorio de Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Alameda #340, Santiago, Chile.

El espermatozoide de *Rhynchocinetes typus* no posee ninguna estructura similar al acrosoma, pero se ha determinado la presencia de actividad lítica capaz de disolver la matriz extracelular del huevo. En nuestro laboratorio se ha logrado identificar en extractos espermáticos una proteasa de aproximadamente 18 kDa con actividad gelatinolítica y esterásica, la cual pudo ser inhibida por inhibidores específicos de serino proteasas como SBTI y pAB. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar bioquímicamente esta actividad tipo tripsina, para lo cual se utilizaron espermatozoides de *R. typus*, los que se sometieron a extracción ácida (HCl 1mM/glicerol 10%). Los 5 ml de extracto así obtenidos presentaron una concentración de proteínas de 0.36 mg/ml y una actividad específica sobre substrato BAEE de 0.0158 mU/mg, los que fueron posteriormente cargados en una columna de afinidad (SBTI-agarosa). Se obtuvieron 3 ml de eluído con actividad BAEE (4.7 mU/mg) y además presentaron una marcada actividad gelatinolítica, al realizar un SDS-Page al 15% copolimerizado con gelatina al 1%.
La enzima purificada por este método requirió de la presencia de iones Calcio (50mM) y Magnesio (30mM), pH 8.0 y una temperatura de 27°C para obtener una actividad óptima. La velocidad máxima de hidrólisis de sustrato se observó con una concentración de BAEE de 0.05 mM. La Km de la enzima fue de 0.017 mM y la Vmax 0.165 mU/ml.
Financiado por FONDECYT 1971234.

LA EXPOSICION DEL ORGANO SUBCOMISURAL (OSC) A UN ANTICUERPO CONTRA SUS PROTEINAS SECRETORIAS (AFRU) ALTERA LA LIBERACIÓN DE ESTAS PROTEINAS. (The exposure of the subcommissural organ to an antibody against its secretory proteins impairs the release of these proteins).

Schöbitz,K. Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.

Evidencias preliminares indican que la inyección en el LCR de rata de un anticuerpo (A_c) contra las glicoproteínas secretorias del OSC alteraría la liberación de nuevas proteínas secretorias al LCR. En la presente investigación se estudió el efecto del A_c AFRU sobre explantes de OSC de bovino cultivados por dos meses. AFRU marcado con fluoresceína fue agregado al medio de cultivo por una hora y luego los explantes se colocaron en medio sin A_c por 14 dias. Los explantes vivos fueron estudiados en un microscopio de fluorescencia, lo que permitió visualizar las glicoproteínas secretorias liberadas y agregadas en grumos sobre las cilias. El análisis diario de los explantes mostró que la cantidad de material inmunorreactivo sobre la superficie de los mismos no varió durante los 14 dias. Explantes fijados y procesados para visualizar el complejo A_g-A_c 1, 7 y 14 días después del pulso de AFRU mostraron: a) que los complejos formados durante la hora de exposición al AFRU permanecen insolubles y unidos al explante; b) no hay secreción de nuevas proteínas secretorias. Hay estudios en marcha para indagar si el A_c altera la síntesis y/o liberación de las proteínas secretorias.
Proyecto FONDECYT 197-0627.

INHIBICION DE LA EXPRESION DE DECORINA, ACELERA LA DIFERENCIACION MUSCULAR Y AUMENTA LA UNION DE TGF-β2 A BETAGLICAN (Inhibition of decorin expression, induces muscle differentiation and enhance TGF-β2 binding to betaglycan).

Riquelme, C., Brandan, E. Unidad de Neurobiología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P.Universidad Católica de Chile.

Factores de transcripción, como MyoD y miogenina, controlan la expresión de genes músculo-específico durante el proceso de diferenciación muscular esquelética. El retiro de factores de crecimiento desde el medio de mioblastos en cultivo, induce la expresión de miogenina y finalmente la diferenciación a miotubos. Los proteoglicanes podrían regular este proceso, organizando la matriz extracelular (MEC) y modulando la actividad de factores de crecimiento.
Decorina, principal proteoglicán de MEC, interactúa con diversas moléculas de matriz y TGF-β. Para evaluar la participación de decorina en este proceso, obtuvimos clones no productores de decorina (clones A6) por transfección estable de mioblastos C_2C_{12}, con el cDNA antisentido para decorina.
Se determinó que clones A6 expresan constitutivamente miogenina en medio de crecimiento. Esto no se acompaña de la expresión de marcadores tardíos de diferenciación, sin embargo al inducir diferenciación, mioblastos A6 expresan creatina quinasa más rápidamente que mioblastos silvestres.
Mediante crosslinking se determinó que no hay diferencia en la unión de TGF-β1 a TGF-βRI y RII en mioblastos silvestres y A6, sin embargo TGF-β2 sólo se une a TGF-β RIII en mioblastos A6. La modulación por decorina, de la unión de estos factores, podría regular el proceso de diferenciación.
C.R Fondecyt 2980053; E.Brandan C.Presidencial, Fondecyt 1990151.

FECUNDACION *IN VITRO* EN *Rhynchocinetes typus*: TECNICA DE FECUNDACION Y EFECTO DE CUBIERTAS OVOCITARIAS SOLUBILIZADAS. (*In vitro* fertilization in the *Rhynchocinetes typus:* fertilization technique and effect of solubilized eggs coats).

Palomino JA, Bustamante E. y Barros C. Laboratorio de Embriología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

El camarón de roca *Rhynchocinetes typus*, presenta un modelo particular de fecundación, principalmente debido que presenta un espermatozoide de forma atípica. En nuestro laboratorio normalmente se obtiene una tasa de fecundación del 60 %, con una concentración espermática de al menos 25.000 células/ml. Además, hemos establecido que no existen diferencias significativas en los porcentajes de fecundación, al incubar ovocitos con espermatozoides obtenidos por disección de los conductos deferentes y aquellos obtenidos por electroeyaculación.
Por otro lado y con el objeto de determinar si existe algun tipo de comunicación entre la matríz extracelular del ovocito y la membrana plasmática del espermatozoide, se analizó la participación de los componentes de las cubiertas ovocitarias en la fecundación. Para esto, se realizaron ensayos de fecundación *in vitro*, preincubando los espermatozoides con 30, 60 y 120 μg/ml de proteínas de cubiertas ovocitarias solubilizadas. Como control se incubaron los espermatozoides con los ovocitos sin previo tratamiento con las cubiertas solubilizadas. Las cubiertas ovocitarias solubilizadas con DTT, inhibieron en 12, 30 y 33% el porcentaje de ovocitos fecundados y las solubilizadas con β-mercaptoetanol inhibieron en 22, 45 y 56 %, respectivamente.
Además se observó que espermatozoides incubados con las cubiertas ovocitarias solubilizadas, presentaron un cambio de forma similar al que ocurre con el espermatozoide cuando contacta con la cubierta del ovocito. De este modo, encontramos espermatozoides abiertos, semicerrados y cerrados. El porcentaje de espermatozoides cerrados aumentó en 11, 14 y 24 %, después de 30 minutos de incubación con 30, 60 y 120 μg/ml de proteína de cubiertas solubilizadas.
Financiado por FONDECYT 1971234.

BIOQUIMICA VI

PROPIEDADES DE LA UNION DE CALCIO A LA REGION CARBOXILO TERMINAL DE LA TUBULINA. (Calcium binding properties to the tubulin carboxyl terminal region) Torres, C.; Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

El heterodímero de α- y β-tubulina, polimeriza reversiblemente para formar microtúbulos. La región carboxilo terminal es importante en la inestabilidad dinámica de los microtúbulos, pues las proteínas MAPs los estabilizan y el calcio los despolimeriza. Hemos demostrado que la interacción con calcio induce su actividad GTPasica, acción que se pierde cuando se remueve el extremo carboxilo terminal con subtilisina. Para identificar y caracterizar el sitio de unión de calcio, los productos de su digestión con subtilisina fueron separados por cromatografía de exclusión. Se comprobó que el heterodímero carente de extremos C-terminal (tubulina S) no une calcio y sólo la mezcla de péptidos C-terminal retiene esta capacidad. La separación por cromatografía de intercambio aniónico y de fase reversa (C18) de una fracción peptídica purificada con capacidad de unión de calcio, permitió determinar sus propiedades de unión. Para caracterizar la afinidad de estos péptidos por calcio, se realizaron experimentos de competencia con el fluoróforo de calcio BTC. Las isotermas de unión se ajustaron a un sitio y se determinó un valor para la constante de disociación aparente (K_{Dapp}) de 5 x 10^{-6} M. Esto se complementará con la caracterización por espectroscopia de masas y microsecuenciación. Se discute un posible modelo peptídico de unión a calcio diferente del típico motivo HLH.
Financiado por proyecto FONDECYT 1981098

UN MODELO ESTRUCTURAL PARA LA AGMATINASA DE *Escherichia coli* (Structural model for *Escherichia coli* agmatinase) Salas, M. *Rodriguez,R., Canales,M, Carvajal, N. Departamento de Biologia Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. * EMBL-Heidelberg, Alemania.

La agmatinasa (EC 3.5.3.11) cataliza la hidrólisis de la agmatina en ornitina y urea. Se la considera como un miembro de la "familia de las arginasas", dado el tipo de reacción que cataliza, las relaciones estructurales entre la arginina y la agmatina (producto de la descarboxilación de la arginina), y las homologías en las secuencias amino acídicas entre las agmatinasas y arginasas conocidas hasta ahora.
Dado que no se dispone de la estructura tridimensional de la agmatinasa, hemos decidido realizar estudios de modelaje por homologia de secuencia (Programa What if) tomando como estructura de referencia la correspondiente a la arginasa de *Bacillus caldovelox*, que comparte un 30% de homologia con la agmatinasa de *E. coli*. El objetivo de este estudio, cuyos resultados se presentan en esta comunicación, es contar con un modelo estructural que guíe nuestros experimentos de modificación química y mutagénesis sitio-dirigida tendientes, fundamentalmente, a esclarecer las bases moleculares de las diferencias en las especificidades de sustrato entre la arginasa y la agmatinasa. El modelo obtenido corrobora la información obtenida en base a los estudios bioquímicos, en relación con la participación de residuos críticos para la catálisis y un posible centro binuclear y sugiere que las diferencias en especificidad resultan de la presencia de residuos no conservados en uno de los loops más extensos, que incluye a Y131, C135 y F137.
FONDECYT 2990049, PI 98.031.076-1-0

ESTUDIO DEL PROCESO DE EMPAQUETAMIENTO DE FICOBILIPROTEINAS: R-FICOERITRINA (The study of the packing process for phycobiliproteins:R-phycoerythrin) Bruna C., Martínez, J., y Bunster, M. Laboratorio de Biofísica Molecular. Depto. Biología Molecular, Universidad de Concepción.

Las ficobiliproteínas son proteínas componentes de sistemas auxiliares de captación de energía luminosa en cianobacterias y algas rojas.
La organización de estos sistemas antena implica tanto el estudio estructural de los componentes como su mecanismo de asociación ya que alcanzan una eficiencia cercana al 95% en la conducción de la luz por lo que su organización debe estar finamente regulada y acoplada a la presencia de polipéptidos de unión «linker».
R-ficoeritrina está compuesta de las subunidades no idénticas, α(18000kda) y β(17500), que se organizan formando un hétero hexámero (αβ)6 y además presenta una subunidad γ(31000kda) y un péptido de bajo peso molecular asociado.
Hemos podido comprobar que la unidad funcional puede aislarse en solución, y estudiarse su mecanismo de empaquetamiento por técnicas cromatográficas y espectroscópicas utilizando variaciones en la fuerza iónica.
Con el objeto de relacionar los estudios cristalográficos de ficoeritrina, en que se observa una densidad electrónica que posiblemente corresponda a la subunidad γ asociada en la región interior del heterohexámero, se cristalizó esta proteína en batch, por la técnica de gota sentada y una vez obtenida una alta cantidad de cristales, éstos se lavaron y redisolvieron para estudiar sólo los componentes polipeptídicos incluídos en los cristales.
En este trabajo se presentará un mecanismo de empaquetamiento para ficoeritrina y los datos experimentales que lo apoyan hasta el momento.
Agradecimientos:Dir de Inv. U de Concepción, Proy: 973172-1.

LA PROTEINA PRION (PrP_{59-91}) REDUCE COBRE: PAPEL DE LOS RESIDUOS DEL TRIPTOFANO EN LA REACCION DE OXIDO-REDUCCION. (The prion protein reduces copper: Role of tryptophan in the oxido-redox reaction) Francisca H. Ruiz y *Eduardo Silva. (Patrocinio: Dr. Nibaldo C. Inestrosa) Facultad de Ciencias Biológicas y *Facultad de Química, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Durante la última década la proteína prión (PrP) ha generado un gran interés por su relación con algunas encefalopatías espongiformes transmisibles tales como la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob y la de la vacas locas. En su extremo N-terminal, el PrP posee una secuencia Pro-His-Gly-Gly-Gly-Trp-Gly-Gln que se encuentra repetida 4 veces. Recientemente se ha observado que este octapéptido es capaz de unir cobre. En nuestro laboratorio hemos estado estudiando la reducción de cobre por glicoproteínas de la superficie neuronal (*J.Neurochem* **73**, 1288-1292 (1999)). En el presente trabajo se han empleado péptidos sintéticos correspondientes a 32 residuos que comprenden 4 repeticiones del octapéptido (PrP_{59-91}), con el objeto de caracterizar su capacidad de reducir cobre. Análisis espectrofotométricos indican que junto a la reducción de Cu^{2+} a Cu^{1+} ocurre una oxidación de los residuos de triptófano, lo que genera la aparición del producto de oxidación N-formilkinurenina. Péptidos mutantes carentes de triptófano generan sólo el 24% de la reducción de cobre observada con el péptido control. Los resultados indican que el PrP reduce cobre *in vitro*. La relación de este efecto con el manejo de cobre celular será discutida.
Financiado por el Proyecto Cobre-CIMM-ICA/006 y Cátedra Presidencial en Ciencias al Dr. Nibaldo C.Inestrosa.

ESTUDIOS DE FOTOENTRECRUZAMIENTO EN INTEGRASA DEL VIRUS DE LEUCEMIA MURINA MO-MuLV. (Photocrosslinking studies on integrase from Moloney Murine Leukemia Virus). Tapia, C., Mansilla, K., Vera, J. Roth, M. y León, O. Instituto de Bioquímica. Universidad Austral de Chile.

La integración del genoma retroviral en el DNA cromosomal del huésped es una etapa esencial en el establecimiento de la infección productiva de los retroviruses. La integración es dependiente de la integrasa (IN), enzima codificada por el virus y de secuencias presentes en los extremos del DNA viral (LTRs).
La enzima de Mo MuLV posee tres dominios: Un dominio N-terminal, que une zinc, un dominio central que contendría el sitio activo y un dominio C-terminal que tiene la capacidad de unir DNA. Pese a una serie de estudios bioquímicos y genéticos no ha sido posible establecer claramente la función de algunos de estos dominios de la enzima. Para ello es necesario conocer que regiones de la enzima están en contacto con el DNA viral y DNA blanco, durante el proceso catalítico.
En este trabajo se presentan estudios de fotoentrecruzamiento en que se ha utilizado como sustrato un DNA sintético análogo al intermediario de integración, que contiene grupos fotosensibles como azidofenacilo o 5-iododesoxiuridina. Estos grupos han sido distribuidos en diferentes posiciones del sustrato .
Al irradiar complejos DNA-IN a 312 nm por 1 min se observa que es posible en varios casos obtener un 5% de fotoentrecruzamiento cuando se utiliza AZP, rendimiento adecuado para obtener datos de secuencia de los peptidos entrecruzados. El entrecruzamiento observado fue dependiente de AZP.
Financiado por proyecto Fondecyt 1980982

INTERACCION DEL TALLO COLAGENOSO DE LA ACETILCOLINESTERASA ASIMETRICA CON HEPARINA. (Interaction of the collagen-like tail of asymmetric acetylcholinesterase with heparin) Deprez, P.[1], Krejci, E.[3], Massoulié, J.[3], Brodsky, B.[2] and Inestrosa, N.C.[1]. [1]Depto. de Biología Celular y Molecular, PUC, Santiago; [2]Dept. of Biochemistry, UMDNJ-Robert Wood Johnson Medical School, Piscataway, NJ y [3]Lab. de Neurobiologie Cellulaire et Moléculaire, ENS, Paris, Francia.

El tallo colagenoso de la acetilcolinesterasa asimétrica posee dos sitios de unión a heparina que interactúan con proteoglicanes de heparán sulfato, determinando su anclaje a la lámina basal y su localización específica en la unión neuromuscular. Ambos sitios se caracterizan por la presencia de la secuencia de consenso B-B-X-B. Para estudiar la interacción de estos sitios con heparina utilizamos péptidos de conformación colagenosa, además de mutagénesis sitio-dirigida en la enzima completa. Ambas aproximaciones muestran que el sitio C-terminal es más afín por heparina que el sitio N-terminal, y que el motivo B-B-X-B es necesario para la interacción. Los estudios con los péptidos también muestran que la interacción es dependiente de la conformación colagenosa, la cual debe presentar un cierto grado de flexibilidad para una mejor interacción, otorgado por las secuencias vecinas al motivo central. El análisis de las enzimas recombinantes sugiere un órden de importancia de los distintos residuos básicos en la interacción con heparina, y confirma la importancia de las secuencias vecinas en la interacción. Este trabajo fué financiado por FONDECYT N°2970072 (P.D.), NIH AR19626 (B.B.), CNRS (J.M.) y una Cátedra Presidencial en Ciencias (N.C.I.).

DISOCIACION DE SUBUNIDADES DE FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli* POR MODIFICACION QUIMICA DE GRUPOS SULFHIDRILOS. (Subunit dissociation of *E. coli* phosphofructokinase-2 upon chemical mofication of sulhydryl groups). Guixé, V. y Babul, J. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La fosfosfofructoquinasa (Pfk) es una enzima sujeta a múltiples mecanismos de regulación. Se ha demostrado, mediante diversas técnicas, la participación de distintos tipos de residuos aminoacídicos, entre ellos grupos SH, en el sitio activo y alostérico de la enzima. Dado que Pfk-2 de *E. coli* es inactivada por agentes modificadores de grupos tioles, decidimos estudiar, mediante modificación química, la participación de este tipo de residuos en las propiedades catalíticas y alostéricas de la enzima. La modificación de Pfk-2 con la sonda fluorescente N-(1-pyreno) maleimida resulta en una enzima inactiva, con una estequeometría de incorporación de 2.03 ± 0,035 moles de modificador/mol de subunidad. La velocidad de modificación es drásticamente reducida en presencia del efector alostérico MgATP. Experimentos de filtración molecular demuestran que Pfk-2 nativa es un dímero en ausencia de ligandos, en tanto que MgATP promueve la formación de un tetrámero. La enzima modificada eluye como un monómero y la presencia de MgATP no induce cambios en el estado de agregación de ésta. Aunque los monómeros modificados son inactivos, las constantes de disociación para los sustratos y el efector alostérico, son las mismas que para la enzima nativa. Los resultados presentados sugieren la presencia de grupos SH en la interfase de las subunidades de Pfk-2 y que cambios conformacionales a través del dímero son esenciales para la actividad catalítica. (FONDECYT 1981091).

DESNATURACION DE FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli* A PARTIR DE DISTINTOS ESTADOS DE AGREGACION INDUCIDOS POR LIGANDOS. (Unfolding of *E. coli* phosphofructokinase-2 from different aggregation states induced by ligands). Baez, M., Rodríguez, P., Guixé, V. y Babul, J., Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

MgATP es un inhibidor alostérico de la fosfofructoquinasa-2 (Pfk-2) e induce la tetramerización a partir del dímero, mientras que en presencia de fructosa-6-P la enzima permanece como dímero. El efecto de estos ligandos sobre la estabilidad de la estructura cuaternaria de la proteína se determinó en experimentos de desnaturación con cloruro de guanidinio, siguiendo la reacción de desplegamiento con medidas de fluorescencia intrínseca, actividad enzimática, volumen hidrodinámico y exposición de zonas hidrofóbicas.
Medidas de actividad enzimática y de fluorescencia intrínseca indican que fructosa-6-P estabiliza al dímero con respecto al control y que MgATP tiene un efecto intermedio. Experimentos de exclusión molecular mostraron que, en ausencia de ligandos y en presencia de fructosa-6-P, la pérdida de fluorescencia intrínseca de la Pfk-2 se debe al desplegamiento de una especie de menor volumen hidrodinámico que el dímero. A su vez, la disminución de fluorescencia de la Pfk-2 está acompañada por una mayor exposición de zonas hidrofóbicas de la proteína. Estos experimentos permiten postular que la fructosa-6-P estabiliza la estructura de la especie de menor volumen hidrodinámico (posiblemente el monómero) y que las interacciones entre las subunidades del tetrámero son las responsables de la protección por MgATP.
(Financiado por Proyecto Fondecyt 1981091).

ZOOLOGIA I

COMPOSICION QUIMICA DE LA LECHE Y ESTRATEGIAS DE HISTORIA DE VIDA: UNA COMPARACION ENTRE LOS ROEDORES *Octodon degus* (PRECOCIAL) Y *Tamias amoenus* (ALTRICIAL) (Milk chemical composition and life history strategies: a comparison between *Octodon degus* (precocial) and *Tamias amoenus* (altricial)) . Veloso, C.*, Place, N.J. # and Kenagy G.J.#. *Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Ecología, Universidad Católica de Chile. # Departamento de Zoología, Universidad de Washington.

Dado que las crías de roedores precociales consumen alimento sólido y se independizan a temprana edad, se espera que la leche en estas especies sea diluida y presente un patrón de dilución contrario al de especies altriciales. Para someter a prueba estas dos hipótesis se trabajó con las especies *O. degus* (Octodontidae) y *T. amoenus* (Siuridae). Se tomaron muestras de leche en terreno a lo largo de todo el período de lactancia. Se determinó proporción de agua, sólidos totales, proteínas, carbohidratos, lípidos y ceniza. La concentración de la leche de *T. amoenus* aumenta significativamente (p=0,0003) a lo largo del período de lactancia, debido al aumento de la proporción de lípidos y proteínas. La leche de *O. degus* se mantiene contante. Inicialmente, la leche de ambas especies presenta una concentración similar (p=0,09). Sin embargo, la leche de *T. amoenus* es más concentrada que la de *O. degus* durante lactancia media y tardía (p=0,009 y p=0,003, respectivamente). El aumento de concentración de la leche en *T. amoenus* puede ser asociado al incremento de los requerimientos energéticos y nutricionales de las crías a medida que crecen. Se sugiere que la elevada concentración inicial observada en la leche de *O. degus* y su mantención a lo largo del período de lactancia pueden estar asociadas a que sus crías presentan una dependencia total de la leche materna hasta los 15 días.
FONDECYT 3970027.

GENETICA POBLACIONAL DE LA RANA CHILENA *Telmatobufo australis* (LEPTODACTYLIDAE). (Population genetics of the Chilean Frog *Telmatobufo australis* (Leptodactylidae)). Brieva, L.M. Instituto de Zoología, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile. Patrocinio: Dr. J. Ramón Formas C.

Telmatobufo australis es una rana endémica de los bosques temperados del sur de Chile, cuya particularidad es tener una larva adaptada morfológicamente a los arroyos de montaña. Debido a que este anuro está restringido a vivir en estos ambientes, se propone que las poblaciones de este leptodactílido presentan una baja variabilidad genética, alta diferenciación poblacional y un bajo flujo génico. Para verificar nuestra proposición se analizaron los patrones de variación alozímica en 4 poblaciones de esta rana. La variabilidad genética se estudió en 10 enzimas que codificaron 13 loci presuntos. El porcentaje promedio de polimorfismo fue 28,8%, y el número promedio de alelos por locus de 1,37. La identidad y distancia genética promedio fue de 0.957 y 0.102 respectivamente. El análisis de los estadísticos de F mostró un coeficiente de entrecruzamiento total de 0,728, altos niveles de subdivisión genética (Fst= 0,241), así como también alto grado de entrecruzamiento dentro de las poblaciones (Fis=0,641). La estimación del flujo génico fue de un migrante cada 8,7 generaciones.
Financiado por PROYECTO FONDECYT 1970656.

EVALUACION DEL ESTADO DE CONSERVACION DE LAS AVES DE HUMEDAL DE LA REGION DEL BIO BIO (Evaluation of the conservation status of wetland birds of the Biobio Region) Jiménez, M. Depto. de Zoología, Fac. Cs. Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. Patrocinante Dr. Oscar Matthei J.

La falta de estrategias de conservación de humedales y su avifauna, y de mecanismos eficientes para la conservación de especies en nuestro país, hace que el Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental sea una herramienta cercana a cumplir estos objetivos, ya que permite tomar medidas concretas de mitigación frente a la ejecución de proyectos o actividades. La falta de información sobre las comunidades de aves de la Región del Bio Bio y su real estado de conservación, son algunos de los principales factores que impiden establecer prioridades en la toma de medidas de mitigación, frente a las especies involucradas en proyectos o actividades que causen impacto ambiental. CONAMA, ha solicitado la elaboración de un «anteproyecto de reglamento que fija los procedimientos para la clasificación de las especies de flora y fauna en categorías de conservación» el que permitirá obtener información sobre el estado de conservación de las especies y con ello evaluar proyectos o actividades. En este trabajo se somete a prueba el anteproyecto de reglamento, evaluando el estado de conservación de 64 especies de aves acuáticas de la Región del Bio Bio, donde se establecen categorías de conservación para 33 especies de ellas.

RELACIONES FILOGENETICAS Y BIOGEOGRAFICAS DEL GENERO *Thylamys* (DIDELPHIMORPHIA, DIDELPHIDAE) EN EL SUR DE SUDAMERICA (Phylogenetic and biogeographic relationships of the genus *Thylamys* (Didelphimorphia, Didelphidae) in southern South America). [1]Rivera-Milla, E, [1],[2]Palma, RE & [2]Yates, TL. [1]Departamento de Ecología, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 14-D, Santiago, Chile & [2] Museum of Southwestern Biology, Department of Biology, The University of New Mexico, Albuquerque, NM 87131, USA.

Actualmente se reconocen seis especies del género Thylamys cada una adscrita a una región vegetacional característica: *T. elegans* en Chile central y Cordillera de la Costa; *T. pallidior* en la Puna Andina; *T. venusta* en las tierras bajas del sur de Bolivia y norte argentino; *T. pusilla* en el Chaco; *T. macrura* en los bosques subtropicales húmedos de Paraguay, y *T. velutinus* en el Cerrado de Brasil.
Con el objeto de entender la radiación del los thylamyinos en Sudamérica evaluamos las relaciones filogenéticas de cinco de las seis especies de Thylamys sobre la base de la secuencia del gen mitocondrial citocromo b, así como otras hipótesis basadas en caracteres alozímicos y cromosómicos.
Los análisis filogenéticos usando parsimonia, distancia y probabilidades, a través del programa PAUP 4.0.
Parsimonia, distancia y probabilidades confirman el caracter monofilético del grupo, apareciendo *T. venusta* como la especie basal. Eventos vicariantes explicarían la diferenciación y actual distribución de *T. elegans* , mientras que los eventos de dispersión lo harían para *T. macrura* y *T. pallidior*.
Financiamiento: FONDECYT 1990156, Fundación Andes 12999/8 y NSF grant (PDS-105-774).

FILOGENIA MOLECULAR DE LAS SUBESPECIES DE *Lama* y *Vicugna* (CAMELIDAE) RECONOCIDAS EN CHILE Molecular phylogeny of the subspecies of *Lama* and *Vicugna* (Camelidae) recognized in Chile. Palma, RE[1], Marín, JC[2], Spotorno, AE[2] & Galaz, JL[3] [1]Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile; [2]Programa de Genética Humana, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad de Chile, Casilla 70061, Chile, y [3]Corporación Nacional Forestal, Casilla 1484, Arica, Chile.

Presentamos resultados de las secuencias nucleotídicas del gen mitocondrial citocromo b con el objeto de evaluar la filogenia entre las subespecies de camélidos reconocidas en Chile. Consideramos secuencias de tres de las cuatro subespecies de *Lama guanicoe* (guanaco), y ambas de *Vicugna vicugna* (vicuña). Adicionalmente, se incorporaron las secuencias de *Lama glama* (llama) y *L. pacos* (alpaca).
Al analizar filogenéticamente las secuencias, concluímos que *L. guanicoe* constituye un grupo monofilético en el cual la forma más septentrional *L. g. cacsilensis* es el taxón basal, mientras que la forma austral *L. g. guanicoe* es la más derivada y el taxón hermano de *L. g. huanacus* de la zona norte-centro. El largo de las ramas en los análisis de parsimonia y probabilidad permite proponer que estaríamos ante la presencia de más de una especie. Adicionalmente, se observa una congruencia filogenética y biogeográfica en camélidos, la cual pudo haber ocurrido a través de eventos biogeográfico-históricos y/o por efecto fundador. *V. vicugna* aparece como un taxón polifilético, *V. v. mensalis* como el taxón hermano de *L. pacos*, mientras que *L. glama* se recupera como la especie hermana de *L. guanicoe*.
Financiado por FONDECYT (1970518).

DIFERENCIACION GENETICA ENTRE POBLACIONES DE *B. spinulosus* (ANURA:BUFONIDAE) EN CHILE. (Genetic differentiation among populations of *B. spinulosus* (Anura:Bufonidae) in Chile). Soto, E.R.; M. Méndez & A. Veloso. Laboratorio de Vertebrados, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En especies con un amplio rango de distribución, un patrón comúnmente descrito es la variación de caracteres en función de su procedencia geográfica. Dicha variación puede acentuarse por restricción del flujo génico y/o diferencias en las presiones selectivas de cada hábitat.
B. spinulosus es una especie de amplia distribución geográfica, que en Chile habita desde Tarapacá hasta la Araucanía. Estudios realizados a nivel morfométrico han evidenciado diferencias entre las poblaciones del Centro y Norte de Chile. Adicionalmente, estos estudios han mostrado que la población del Tatio resulta ser la más divergente entre las poblaciones estudiadas. La variación observada ha llevado a sugerir la existencia de aislamiento genético entre las poblaciones del Norte y Centro de Chile. Sin embargo, a la fecha no existen estudios genéticos que evalúen esta proposición.
En este estudio se aplicó la técnica RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) a seis poblaciones de *B. spinulosus* (Tatio, Vilama, Quebrada de Jerez, Peine, Portillo, Farellones). Los resultados muestran diferencias entre poblaciones del Norte Grande respecto a poblaciones de Chile Central. Además, en la población del Tatio, se observaron bandas que permitirían diferenciarla del resto de las poblaciones estudiadas. Se discuten estos resultados en el contexto de la distribución y el grado de variación morfológica descrito para esta especie.

COMPARACION CROMOSOMICA EN LOS ANUROS DEL GENERO *Telmatobufo* (LEPTODACTYLIDAE). (Chromosomal comparison in anurans of the genus *Telmatobufo* (Leptodactylidae)). Cuevas, C C. Instituto de Zoología «Ernst F. Killian», Casilla 567, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. E-mail: ccuevas@valdivia.uca.uach.cl. Patrocinio: Dr. Eduardo Jaramillo

Las especies del género *Telmatobufo* (*T. australis, T. bullocki,* y *T. venustus*) son endémicas de la zona centro-sur de Chile y comparten un complemento diploide de 2n=26, y su NF es 52. Se describen por primera vez los cromosomas de *T. venustus* y los patrones de bandeo (C, Q y NOR) en las tres especies. Al analizar los cariotipos con tinción corriente se detectó la presencia de un polimorfimo en los machos de *T. venustus* (par 5 (st)) y *T. bullocki* (par 3 (st)). En las dos especies en que se da este polimorfismo, el brazo p de uno de los homólogos es más grande y además en *T. venustus* el brazo q de este homólogo posee una duplicación de la región NOR. Los resultados obtenidos se discuten con relación a la evolución de la heterocromatina-c en las tres especies del género *Telmatobufo* y la posible presencia de sistemas sexuales XX/XY en *T. bullocki* y *T. venustus*.
Financiado por PROYECTO FONDECYT 1970656

EVOLUCION DEL TAMAÑO DEL GENOMA Y POLIPLOIDIA EN ROEDORES. (Genome size evolution and polyploidy in rodents). Gallardo*, M., Bickham[1], J. W y Honeycutt[1], R. *Instituto de Ecología y Evolución, Universidad Austral de Chile. [1]Dept. Wildlife & Fisheries Sci., Texas A&M University, USA. Financiado por FNC 1970710 y Comisión Fulbright.

El tamano del genoma es característico de cada especie y representa la cantidad de ADN por núcleo, aunque no hay una correlación directa con la complejidad organísmica. Datos citogenéticos (2 n = 102), alozímicos y los espermios gigantescos del octodóntido *Tympanoctomys barrerae* sugieren tetraploidía. Para poner a prueba esta hipótesis se estimó el tamaño del genoma por citometría de flujo en seis familias de roedores histricognatos sudamericanos, y una familia africana (Bathyergidae). Los tejidos fueron sometidos a disgregación proteolítica y se tiñeron con ioduro de propidio. Se contaron 10.000 células, usando sangre de gallina como control interno. Aunque el contenido nuclear de la radiación sudamericana es significativamente mayor (promedio: 8.48 pg ADN) que el de la radiación africana (7.7 pg), el valor más alto encontrado en mamíferos lo presenta *Tympanoctomys barrerae* (16.8 pg). Este valor, que corresponde al canal 4n, indica que la especie es tetraploide. El tamano del genoma gamético (9.2 pg) mantiene la relación 1: 2 con los tejidos somáticos. Se discuten las dificultades teóricas asociadas a la poliploidía en mamíferos, su rol en la especiación, y las implicaciones evolutivas del peculiar cariotipo de *Tympanoctomys* que aparentemente es disómico en varios autosomas.

FARMACOLOGIA III

EFECTO DE Fe^{3+}/ASCORBATO SOBRE LA UDP-GLUCURONILTRANSFERASA MICROSOMICA DE HIGADO DE RATA. (Effect of Fe^{3+}/Ascorbate on rat liver microsomal UDP-Glucuronyltransferase activity) *Letelier M.E., *Pino, P., **Jiménez, I. y **Speisky, H. *Departamento Química Farmacológica y Toxicológica. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas. **Toxicología Nutricional, INTA, Universidad de Chile.

La UDP-glucuroniltransferasa (UDPGT), presente en el retículo endoplásmico liso, cataliza la conjugación de numerosos xenobióticos con UDPGA; los productos de dicha reacción son hidrosolubles, y generalmente inactivos. La enzima es activada por detergentes y por condiciones de estrés oxidativo, sin embargo, los mecanismos involucrados en dicha activación no se han establecido aún. Se postula que modificaciones inducidas, ya sean en el ambiente fosfolipídico o proteico de membrana, por sistemas oxidantes, como Fe^{3+}/Ascorbato, o agentes solubilizantes, como Tritón X-100, alterarían conformacionalmente la enzima, ya sea facilitando el acceso del UDPGA, y/o provocando cambios en su actividad.
La preincubación de microsomas con Fe^{3+}/Ascorbato o con Tritón X-100, dió lugar a una activación similar en la conjugación del sustrato p-nitrofenol con UDPGA. Aunque ambos agentes aumentaron la Km_{app} y $Vmáx_{app}$ de la UDPGT, los cambios se tradujeron en un aumento de 300% en la eficiencia catalítica de la enzima. La adición posterior de tio-reductores (DDT,GSH o L-cisteína) provocó la reversión sólo de la activación inducida por Fe^{3+}/Ascorbato. Estos resultados sugerirían que la activación de UDPGT por modificación oxidativa de tioles podría representar, fisiológicamente, un mecanismo de defensa, especialmente en situaciones de estrés oxidativo *in situ*, a través de procesos metabólicos catalizados por el sistema del citocromo P_{450}.

METABOLISMO MICROSOMAL DE ETANOL EN RIÑON DE RATAS ALCOHOLICAS. (Microsomal metabolism of ethanol in rat kidney of alcoholics rats). Rodrigo, R. Guajardo V., Campos, O. y Orellana, B.M, ICBM, Programa de Farmacología, Fac de Medicina, U. de Chile.

La mayor parte del etanol ingerido es metabolizado por el hígado, sin embargo, también se ha detectado cierta capacidad para oxidar etanol en órganos extrahepáticos como el riñón. El acetaldehído, producto de la oxidación del etanol, tiene efectos tóxicos en el órgano en que se produce. El etanol es oxidado principalmente por la enzima deshidrogenasa alcohólica, en menor grado por el SOM dependiente de citocromo P450 y por la catalasa. Existen antecedentes que indican que en el hígado, el consumo prolongado de etanol induce la actividad del citocromo P450 2E1 y disminuye la oxidación mitocondrial de ácidos grasos. Sin embargo, existe poca información del efecto del etanol sobre la oxidación microsomal renal
El objetivo de este trabajo fué estudiar en riñón de rata si el consumo prolongado de etanol afecta la oxidación microsomal de este xenobiótico catalizada por el citocromo P-450. Ratas macho adultas consumieron una solución acuosa de etanol al 12.5 % como única bebida durante 10 semanas. Se determinó el efecto de este xenobiótico sobre el contenido total citocromo P-450 y la oxidación de etanol a acetaldehído en microsomas de riñón de rata. Se encontró que, a diferencia del hígado, en el riñón el consumo prolongado de etanol no afecta significativamente el contenido total de citocromo P-450 ni el metabolismo microsomal de etanol.
Fondecyt 1990-784 y EDID-98-002

LIPOPEROXIDACION INDUCIDA POR Cu^{2+}/ ASCORBATO EN MICROSOMAS DE HIGADO DE RATA. (Induced lipoperoxidation by Cu^{2+}/Ascorbate in rat liver microsomes). Marín-Catalán, R., Salazar, J., Pérez, P., Fuentes, R., Urzúa, L. y Letelier, M. E. Departamento Química Farmacológica y Toxicológica. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

El Cu^{2+} en presencia de Ascorbato, cataliza la generación de especies reducidas del oxígeno (Haber-Weiss/Fenton). Estas especies promueven la oxidación de macromoléculas biológicas, como son los fosfolípidos de membrana. Además, el Cu^{2+} puede unirse a proteínas de alto contenido tiólico como son la metalotioneína y la ceruloplasmina, como también a la histidina. Las enzimas de biotransformación de xenobióticos, presentes en el retículo endoplásmico: sistema oxidativo del citocromo P_{450}, UDP-glucuroniltransferasa y GSH-transferasa, son proteínas tiólicas. La unión del Cu^{2+} a estas proteínas disminuiría su concentración efectiva y por lo tanto, afectaría la capacidad lipoperoxidativa del sistema Cu^{2+}/ Ascorbato.
En este trabajo se estudió la lipoperoxidación microsómica (preparación enriquecida en retículo endoplásmico) inducida por Cu^{2+} en presencia de Ascorbato, medida por la técnica de TBARS. Nuestros resultados demostraron que Cu^{2+}/Ascorbato induce la lipoperoxidación de las membranas microsómicas de hígado de rata. Por otra parte, experimentos de consumo de oxígeno y la determinación de tioles totales demostraron que el Cu^{2+} se une a las proteínas microsómicas. Más aún, el efecto lipoperoxidativo predomina a concentraciones nmolares de Cu^{2+}, y el fenómeno de unión, a concentraciones micromolares. Considerando estos antecedentes se estandarizó la técnica de TBARS para medir lipoperoxidación microsómica inducida por Cu^{2+}/Ascorbato.

DIABETES EXPERIMENTAL: ALTERACIONES EN EL SISTEMA MICROSOMAL HEPATICO DEL METABOLISMO DE DROGAS (Experimental diabetes: changes on the hepatic microsomal drug-metabolizing systems). Vega, P., Del Villar, E., Valdés, E. y Sánchez, M. Programa de Farmacología ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La estreptozotocina (STZ) es un conocido agente diabetogénico experimental que determina un estado patológico que se asemeja a la diabetes mellitus dependiente de insulina. En esta enfermedad hay un trastorno importante en el metabolismo endógeno y por las complicaciones que de esto se derivan el paciente diabético requiere un tratamiento permanente con fármacos cuyo metabolismo también puede alterarse.
En este trabajo se presentan los resultados por efecto de la diabetes inducida por STZ en el metabolismo oxidativo in vitro Fase I y de conjugación Fase II de estructuras moleculares modelo en ratas Wistar.
Conjuntamente con los parámetros fisiológicos en el estado de diabetes se muestran las alteraciones metabólicas en el metabolismo de Androstenediona y estrona.
Conjuntamente con una disminución significativa del citocromo P-450 hepático en la rata diabética disminuyeron significativamente los metabolitos de Androstenediona 16 α, 6 B y 2 BOH. El tratamiento con insulina revirtió en parte este efecto.
La actividad de Vmáx de la UDPGT Fase II para estrona aumentó en los mircrosomas hepáticos de ratas diabéticas en un 70 % sin cambio significativo en la Km aparente con respecto a los controles. La insulina abolió el efecto estimulante observado.
Se relacionan y se discuten las variaciones metabólicas observadas con el contenido y las familias de citocromo P-450 existentes como con la activación tipo detergente observada para la UDPGT.

GENERACION DE SUPEROXIDO (O_2^-) MITOCONDRIAL BAJO LA INFLUENCIA DEL FE EN RATAS HIPERTIROIDEAS O TRATADAS CON LINDANO. (Generation of mitochondrial superoxide radical under the influence of iron in hyperthyroid or lindane-treated rats). Tapia G. y Videla, L.A. Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La generación mitocondrial de O_2^- contribuye al estrés oxidativo hepático, el cual aumenta con 3,3',5-Triiodotironina (T_3), con lindano y con sobrecarga aguda de Fe. T_3 activa procesos que generan O_2^-, H_2O_2 y óxido nítrico, lindano actua por mecanismos asociados a su biotransformación y Fe cataliza la generación de radicales libres.
Se evalua el efecto del Fe, y su interacción con T_3 y con lindano sobre la producción de O_2^- (oxidación de adrenalina a adrenocromo), en partículas submitocondriales hepáticas, incubadas con NADH y antimicina-A. Ratas Sprague-Dawley fueron inyectadas *i.p.* con (a) Fe-dextrano (200mg/kg); (b) T_3 (0,1mg/kg/día); (c) lindano (40mg/kg); (d) Fe y T_3; (e) Fe y lindano y (f) controles.
La generación de O_2^- (a) aumenta con Fe (80,2%), efecto reproducido *in vitro* (57%); (b) aumenta progresivamente con T_3 (109,7% en T_3-2 días); (c) disminuye con Fe+T_3-2 días (44,1%), efecto reproducido *in vitro* (30%); (d) no es modificada por lindano; (e) disminuye con Fe+lindano (45,9%).
En conclusión, la generación de O_2^- aumenta con Fe (por acción directa del metal), y con T_3 (por activación de componentes mitocondriales), disminuyendo en las interacciones Fe+T_3-2 días (mayor utilización de O_2^- por Fe) y Fe+lindano (aumento de proteínas oxidadas de160% respecto a Fe).
FONDECYT 1970300

INFLUENCIA DE UNA SOBRECARGA DE FE, Y SU INTERACCION CON EL HIPERTIROIDISMO E INTOXICACION CON LINDANO, EN LA PRODUCCION HEPÁTICA DE OXIDO NITRICO (NO). (Influence of an iron overload and its interaction with hyperthyroidism and lindane intoxication, on liver nitric oxide generation). Fernández, V., Cornejo, P. y Videla, L.A. Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La sobrecarga de Fe, el lindano y 3,3',5-Triiodotironina (T_3) desarrollan estrés oxidativo hepático. Fe cataliza la generación de radicales libres, lindano actua vía su biotransformación y T_3 activa procesos que generan NO, O_2^-, y H_2O_2. NO, sintetizado por NO sintasa (NOS), interactua con O_2^- generando peroxinitrito (potente prooxidante).
Se evalua el efecto del Fe, su interacción con T_3 y con lindano sobre la producción de NO (oxidación de oxihemoglobina a metahemoglobina), con L-Arginina y NADPH en citosol hepático. Ratas Sprague-Dawley fueron inyectadas *i.p.* con (a) Fe-dextrano (200mg/kg); (b) T_3 (0,1mg/kg/día); (c) lindano (40mg/kg); (d) Fe y T_3; (e) Fe y lindano y (f) controles.
NO aumenta con Fe (103%), con lindano (107%) y progresivamente con T_3 (T_3-2 días: 63%), efecto potenciado con Fe+T_3 (1 y 2 días), y disminuye con Fe+lindano.
Conclusión: la activación de NOS por T_3 y lindano y/o sus metabolitos involucraría su inducción, mientras que el Fe la activaría directamente. La potenciación (Fe+T_3) implicaría activación de la NOS sobre-expresada y la reducción de su actividad (Fe+lindano) un menor contenido enzimático por oxidación de proteínas (33,5 % respecto a lindano y 160% respecto a Fe).
FONDECYT 1970300

ACTIVIDAD MICROSOMAL HEPÁTICA EN RATAS HIPERTIROÍDEAS CON SOBRECARGA AGUDA DE FE. (Hepatic microsomal activity in hyperthyroid rats with acute iron overload). Massa, L. y Fernández, V. Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
Patrocinio V. Fernández.

La calorigénesis tiroídea induce estrés oxidativo (Eox) hepático, asociado a una mayor generación de especies reactivas derivadas del O_2, y la sobrecarga aguda de Fe promueve la formación de radicales libres (reacciones de Fenton y de Haber-Weiss).
En este trabajo se evalúan parámetros microsomales hepáticos relacionados con el Eox, utilizando ratas Sprague-Dawley tratadas *i.p.* con (a) 0,1 mg/kg/día de 3,3',5-Triiodotironina (T_3) o su vehículo (NaOH 0,1 N); (b) Fe-dextrano (200mg/kg) o su vehículo (NaCl 0,9%) y (c) Fe y T_3.
La producción de superóxidos (O_2^-) (oxidación de adrenalina a adrenocromo), aumenta progresivamente con T_3 (50% en T_3-2 días), en paralelo con una disminución del máximo de absorbancia a 450 nm del citocromo P-450 (P-450) (cuantificación de la especie reducida unida a CO). 4 horas después de la sobrecarga de Fe, estos parámetros disminuyen en todos los grupos. La actividad de P-450 reductasa (reducción de citocromo c) no es modificada por Fe y/o T_3.
Se concluye que el efecto de T_3 involucra cambios microsomales relacionados con la actividad de alguna(s) isoenzima(s) de P-450, que aumentarían la generación de O_2^-. El efecto del Fe podría involucrar inactivación del P-450, que sería responsable de las disminuciones en la producción de O_2^- y de la absorbancia máxima de P-450.
FONDECYT 1970300.

CORRELACION ENTRE LA ACTIVIDAD DE MIELOPEROXIDASA HEPÁTICA (MPO) Y EL EFLUJO SINUSOIDAL DE DESHIDROGENASA LACTICA (LDH) EN RATAS HIPERTIROIDEAS CON SOBRECARGA AGUDA DE HIERRO (FE). (Correlation between the activity of hepatic myeloperoxidase and the sinusoidal efflux of lactic dehidrogenase in hyperthyroid rats with iron overload. Carrión Y., Boisier X., Tapia G.. Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
Patrocinio : Gladys Tapia.

El hipertiroidismo y la sobrecarga de Fe inducen estrés oxidativo hepático. 3,3',5-Triiodotironina (T_3) aumenta la producción de especies reactivas derivadas del oxígeno, estimulando la lipoperoxidacíon y la oxidación de proteínas y el Fe cataliza la generación de radicales libres.
Se evalúa el efecto del Fe y su interacción con T_3, sobre la actividad de MPO, como índice de infiltración leucocitaria, y el eflujo sinusoidal de LDH como índice de hepatotoxicidad, en ratas Sprague-Dowley tratadas i.p. con (a) 0.1mg/Kg/día de T_3 (b) Fe-Dextrano (200 mg/Kg) y (c) dosis isovolumétricas de los vehículos (controles).
La actividad de MPO, aumentó significativamente sólo en el grupo Fe +T_3 (170%), con incrementos similares en el eflujo de LDH (35 veces en Fe+T_3), y correlación directa (r=0,94) entre ambos parámetros. Concomitantemente se observa un aumento de la lipoperoxidación y proteínas oxidadas y la disminución del glutatión total, en todos los grupos de ratas tratadas.
Se concluye que la interacción de T_3 y Fe alteraría la permeabilidad celular, con infiltración leucocitaria, determinando una respuesta inflamatoria.
FONDECYT 1970300.

BIOLOGIA CELULAR VI

EN BUSQUEDA DE LA VERDADERA CELULA TRONCAL MESENQUIMATICA (Looking for the real mesenchymal stem cell). Conget, P., Minguell, J.J. Laboratorio Biología Celular, INTA, Universidad de Chile.

En la médula ósea (MO) se encuentran las células troncales hematopoyéticas y las precursoras de tejidos mesenquimáticos (MPC) tales como hueso, cartílago, músculo, tejido adiposo, estroma de MO. Previamente demostramos que a partir de células mononucleadas de MO humana es posible aislar y expandir *ex vivo* MPC, las que se diferencian a osteoblastos o adipocitos. Estas células son morfológica e inmunofenotípicamente homogéneas, sin embargo sus potenciales de diferenciación y autorenovación son variables. Así, en cultivos primarios de MPC el 3% de las células está en Go, valor que aumenta a 20 % con subcultivo. La selección positiva (5 -fluorouracilo), enriquece (70%) estas células, las que aparecen con menor tamaño, expresan antígenos propios de MPC y su sobrevida requiere de medio fresco. Estas células quiescentes pueden diferenciarse a osteoblastos, pero su diferenciación a adipocitos es limitada. Estos resultados sugieren que sólo una fracción de MPC expandidas *ex vivo*, corresponde a las «verdaderas» células troncales mesenquimáticas (MSC), residiendo en ellas el potencial de autorrenovación. A diferencia de las MPC y dada la expresión del receptor CAR, las MSC se transducen con vectores adenovirales, lo que ha permitido confirmar en MPC, la existencia y características de las MSC. En conjunto, estas propiedades hacen de las MSC un blanco atractivísimo para terapias celulares o génicas dirigidas a alteraciones hematopoyéticas y osteocondromusculares.
(Fondecyt 2970016 y 8970028; Beca Fundación Andes)

CELULAS PROGENITORAS MESENQUIMATICAS EN SANGRE DE CORDON UMBILICAL HUMANA (Mesenchymal progenitor cells in umbilical cord blood). Erices, A. Laboratorio de Biología Celular, INTA, Universidad de Chile. (Patrocinio : Juan P. Rodríguez)

En la médula ósea (MO) adulta existen dos poblaciones de celulas progenitoras: las hematopoyéticas (PH), que originan distintos linajes de la sangre, y las mesenquimáticas (PM), que son precursores de estroma de médula ósea, hueso, cartílago, músculo y tejido adiposo. Durante la vida intrauterina los PH se movilizan, vía circulación fetal, desde el hígado a la MO en formación, sin embargo se desconoce un proceso similar para las PM.
En este estudio se evaluó la presencia de PM en muestras de sangre de cordón umbilical (SCU) humana con distinta edad gestacional. Los cultivos adherentes obtenidos, muestran células con características de osteoclastos (OST) o PM. Los OST son multinucleadas, TRAP (+), $CD45^+$ y $CD51/CD61^+$ (receptor de vitronectina). Las células PM tienen morfología fibroblastoide, expresan antígenos mesenquimáticos (SH2, SH3, SH4, ASMA), ≥ 85% están en fase Go/G1, de las cuales un 5% está Go. Las PM pueden ser expandidas *ex vivo* e inducidas a diferenciar a osteoblastos (expresión fosfatasa alcalina y mineralización de matriz) y adipocitos ($OIL-Red^+$). La generación de cultivos tipo OST o PM parece depender de la edad gestacional. Las características de PM derivadas de SCU (proliferación, ciclo celular y diferenciación),similares a las de PM de MO adulta, sugieren para estas células un potencial uso en terapias celulares o génicas.
(Fondecyt 2980017 y Beca CONICYT)

ALTERACION DE LA FUNCION DE LA PROTEINA c-Rel EN MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFERICA (MNSP) DE PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO GENERALIZADO (LEG). (Altered function of c-Rel protein in peripheral blood mononuclear cells of patients with systemic lupus erythematosus). Metz, C., Massardo, L. y Jacobelli, S. Depto. de Inmunología Clínica y Reumatología. Facultad de Medicina. P. Universidad Católica de Chile.

La familia de factores de transcripción NF-κB/Rel y sus inhibidores IκB regulan la expresión de genes de la respuesta inmune y sus alteraciones llevan a disfunciones del sistema inmune. Sin embargo, se desconoce su participación en autoinmunidad. Una paradoja que ha sido estudiada por largo tiempo es que linfocitos T de pacientes con LEG son refractarios a la activación *in vitro*. Esto se refleja en una menor producción de IL-2. La expresión inducible de la proteína c-Rel, un miembro de esta familia de factores de transcripción codificado por el proto-oncogen c-*rel*, es crucial para la activación de los linfocitos T y la producción de IL-2. En este trabajo analizamos los niveles de c-Rel en inmunoblots de extractos nucleares y citosólicos de MNSP de pacientes con LEG y de individuos sanos. Observamos: a) sobrexpresión de c-Rel en el citosol, pero menor entrada al núcleo después de activar los MNSP con ConA; b) alteraciones en los niveles de IκBα e IκBβ en reposo y durante la activación de linfocitos T que podrían explicar en parte las fallas descritas para la expresión de IL-2 en estos pacientes (Fondecyt: 1981026).

IDENTIFICACION DE UN LIGANDO EN ASTROCITOS PARA LA PROTEINA ANCLADA CON GLICOLIPIDO, THY-1 (Identification of an Astrocytic Ligand for the GPI-anchored Protein Thy-1). L. Leyton#, P. Schneider*, A. F.G. Quest#* and C. Bron*. #ICBM-Faculty of Medicine, University of Chile. *The Institute of Biochemistry, University of Lausanne, Switzerland. Supported by the Swiss National Foundation. LL supported by FEBS(Europe) and DID (Chile),

Thy-1 is a glycoprotein expressed in mammalian neurons that has been implicated in mediating cell-cell interactions important for stabilization of neuronal connections after cessation of axonal growth. However, the precise role for Thy-1 is still unclear, since its ligand(s) has not been identified. Results in the literature suggest that astrocytes represent potential carriers for a Thy-1 ligand(s). Indeed, Thy-1 bearing EL-4 thymoma cells bound to the rat astrocytic cell line (DI-TNC1) five times more readily than $EL-4^{-t}$ control cells lacking Thy-1 expression. This binding was blocked by anti-Thy-1 antibodies or soluble Thy-1-Fc chimeras. The data confirmed the existence of a specific Thy-1 binding component on the surface of astrocytes. To study the functional significance of Thy-1 ligand binding , phosphotyrosine content in astrocytes was followed by immunofluorescence and found to increase at the tip of stress fibers upon incubating the astrocytes with EL-4 cells (not $EL-4^{-t}$), suggesting that Thy-1/Thy-1 ligand interaction triggers signaling events in astrocytes. The fluorescence pattern was reminiscent of that found for focal adhesions (FA) upon ligand binding to and aggregation of integrins. Since integrins recognize RGD-like sequences, the effect of GRGDS/GRGES and RLD/RLE peptides was tested on the cell-cell adhesion assay. GRGDS and RLD inhibited binding by 60% and 40%, respectively. Whereas, the respective controls, GRGES and RLE peptides had no effect. Since an RLD peptide is present and highly conserved in known Thy-1 sequences, these results suggest that Thy-1 is binding to an astrocytic integrin and acting as a cell adhesion molecule.

PAPEL DE LAS CELULAS DENDRITICAS EN LA INDUCCION DIFERENCIAL DE LA INTEGRINA DE HOMING TEJIDO-ESPECIFICA α4β7 EN LINFOCITOS T DE RATON. (Role of dendritic cells in the induction of α4β7 integrin on T lymphocytes).

J.R. Mora[1,2], M.R. Bono[1], y M. Rosemblatt[1,2]. [1] Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, [2] Fundación Ciencia para la Vida. Santiago – Chile.

Los linfocitos T (LT) vírgenes circulan sin preferencia por todos los órganos linfoides secundarios, mientras que aquellos que han sido activados quedan restringidos a circular sólo por ciertos tejidos. En el ratón se han identificado las moléculas de adhesión esenciales para el *homing* de LT hacia ganglios linfáticos periféricos (L-Selectina) y mucosa intestinal (integrina α4β7). Sin embargo, no se sabe qué elementos tisulares determinan que un LT adquiera, al momento de activarse, una molécula de *homing* u otra. Un posible candidato son las Células Dendríticas (CD presentadoras de antígenos) de los diferentes tejidos linfoides.
Con el fin de evaluar el potencial de las CD de inducir un fenotipo de homing específico, utilizamos CD aisladas desde diferentes tejidos linfoides del ratón y cargadas con su péptido específico para activar LT virgen derivados de ratones transgénicos para el receptor de célula T (Tg/TCR). Los parámetros de activación y la expresión de los receptores de homing se midieron por citometría de flujo. Los resultados indican que, en presencia del antígeno, CD de placas de Peyer inducen una mayor expresión de α4β7 comparadas con CD de ganglios. Experimentos *in vivo* con los ratones Tg/TCR mostraron que la molécula de *homing* α4β7 sólo se induce al administrar el péptido por vía digestiva, pero no por vía subcutánea, lo cual indicaría que la expresión de moléculas de *homing* también dependería del sitio de entrada del antígeno.
(Financiado por Fondecyt 2990013, 198208 y 1990569, Beca de Fundación Andes, Beca Depto.Postgrado y Postítulo U.de Chile).

ACIDO RETINOICO AUMENTA LA COMUNICACION INTERCELULAR EN CELULAS HUMANAS DE CARCINOMA EPIDERMOIDE ORAL Y MAMARIO. (Retinoic acid increases gap junctional intercellular communication in human breast and nasopharingeal carcinoma cell lines).

Gabrielli, L., Fullerton, D., Montoya, M., Alvarez, M. y Sáez, C.G. Programa de Cáncer. Fac.de Medicina. P. Universidad Católica de Chile. Patrocinio: Imarai, M.

Investigamos la comunicación intercelular por uniones en hendidura (CIUHs) en células tumorales tratadas con ácido retinoico (AR), como un posible mecanismo que restauraría la diferenciación celular, comúnmente alterada en cáncer. Líneas celulares humanas de adenocarcinoma mamario (MCF-7) o epidermoide oral (KB3.1) fueron tratadas con AR all-trans durante 4 y 8 días, respectivamente. Cada 24 horas se evaluó la CIUHs mediante microinyección de Amarillo de Lucifer y la distribución subcelular de Conexinas 43, 40, 32 y 26 mediante inmunocitoquímica. En MCF-7 el aumento de CIUHs por AR (38 ± 5%), al día cuarto de tratamiento, coincidió con cambios en morfología celular y una mayor reactividad y localización en membrana para Cx43, 40 y 26. En KB3.1 el aumento de CIUHs fue de 30 ± 12,5 % al día cuarto de tratamiento, concomitante con una mayor reactividad para Cx 32 y 43 en membrana de células adyacentes. Estos cambios coincidieron con una disminución en la progresión del crecimiento y mayor muerte celular. Las células cultivadas en ausencia de AR se mantuvieron incomunicadas durante el experimento. Los resultados indicarían que AR, además de otros efectos, aumentaría la CIUHs previo a la disminución del crecimiento y muerte celular.
Fondecyt 1990120.

EN EL MIELOMA MULTIPLE, EL ESTROMA DE LA MEDULA OSEA CONTRIBUYE A LA PROLIFERACION DE LA CELULA PLASMATICA MALIGNA. (The bone marrow stroma contributes to the proliferation of the malignant plasma cell in Multiple Myeloma).

Reyes X., Simon V., Alarcón G., Fernández M. (Unidad de Biología Celular, INTA, U. de Chile)

El Mieloma Múltiple (MM) es una neoplasia de las células B que se caracteriza por la acumulación, en la médula ósea (MO), de células plasmáticas (CP) malignas productoras de una inmunoglobulina monoclonal. Esta particular localización de las células tumorales sugiere que el estroma medular tiene un rol en la patogénesis del MM. En cultivos de corto término de muestras de tumor se ha detectado la producción de los factores estimuladores de colonias G-CSF y GM-CSF así como de IL-6, proponiéndose para ellos un rol proliferativo en la CP. En la MO normal, la producción de estos factores radica en las células del estroma y en particular para IL-6 se ha demostrado, in vitro, un aumento en su producción como consecuencia de la adhesión de CP a células de estroma.
El objetivo de este trabajo fue: a)-estudiar el efecto de G-CSF, GM-CSF e IL-6 sobre la proliferación y adhesión a estromas de MO, de CP de MM y b)-estudiar el efecto de la adhesión a estroma normal y de MM en la proliferación de la CP. Para esto, se establecieron cultivos de células de estroma a partir de células mononucleadas de MO de sujetos normales y de pacientes con MM al diagnóstico. Una vez confluentes fueron "cargados" con células de la línea celular de MM, IM-9 (en medio de cultivo sin suero fetal)y se determinó el % de adhesión (marcaje con Cr^{51}) y el índice proliferativo (incorporación de BrdU) por citometría de flujo . Los resultados obtenidos muestran que: a)-los factores estudiados no tienen efecto en la proliferación de la CP pero sí en la adhesión de la CP a estromas normales, b)-en ausencia de suero fetal bovino, las células IM-9 dependen de la adhesión al estroma (normal y de MM) para mantener su sobrevida y proliferar, y c)-el % de adhesión de CP a cultivos confluentes de células de estroma de MM es mayor que a aquellos de MO normal. (Fondecyt 8970028 y 1990082)

EL RECEPTOR DE HDL (SR-BI) ES SEGREGADO AL POLO BASOLATERAL POR UN MECANISMO SENSIBLE A COLESTEROL. (The HDL receptor SR-BI is basolaterally addressed through a cholesterol sensitive mechanism)

Klattenhoff, C., Burgos, P., de la Fuente, E., Rigotti, A., González, A. P. Univ. Católica de Chile, Fac. Medicina y Fac. Ciencias Biológicas, Santiago, Casilla 114D.

Las células epiteliales distribuyen asimétricamente proteínas de membrana en dominios apical y basolateral de su superficie celular. Ciertas proteínas son segregadas apicalmente a través de un mecanismo que presumiblemente involucra su integración en balsas formadas por colesterol y esfingolípidos a nivel del TGN. El receptor scavenger clase B, tipo I (SR-BI), es crucial en la regulación del contenido celular de colesterol, mediando su intercambio entre la membrana plasmática y las HDL. La inmunohistoquímica ha mostrado una distribución del SR-BI apical en algunos tipos de células epiteliales mientras que es no-polarizada en hepatocitos. En este trabajo, hemos obtenido células MDCK transfectadas en forma estable con el cDNA del SR-BI y observado una distribución predominantemente basolateral, por inmunofluorescencia y biotinilación dominio específica. Al depletar 50% del colesterol celular, condición que impide la formación de balsas lipídicas, se redistribuyó el SR-BI apareciendo también en el polo apical. Es la primera evidencia de que una depleción de colesterol celular modifica la polaridad de una proteína basolateral, y en este caso con una posible relevancia para el metabolismo del colesterol. (FONDECYT #1980974, #899006, #2990025 y Cátedra Presidencial en Ciencia).

BIOQUIMICA VII

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE MUTANTES EN EL GEN DE INMUNIDAD A MICROCINA E492. (Isolation and characterization of mutants on immunity gene to microcin E492). Baeza, M., Monasterio O. y Lagos R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Células productoras de bacteriocinas se protegen de la autodestrucción sintetizando proteínas llamadas de inmunidad. En cepas productoras de colicinas formadoras de poros, estas proteínas están localizadas en la membrana citoplasmática, describiendose básicamente dos mecanismos de acción: i) interacción con el dominio formador de poro de la colicina, ii) interacción con el aparato de translocación necesario para la inserción de la colicina en la membrana. La microcina E492 es un polipétido antibiótico que ejerce su acción sobre cepas de *E. coli* (y bacterias relacionadas), mediante la formación de canales iónicos en la membrana citoplasmática. La proteína MceB le confiere a la célula inmunidad a la microcina E492. Esta proteína se localiza en la membrana citoplasmática, siendo suficiente muy bajos niveles de expresión para conferir inmunidad. De acuerdo a esto ultimo, una interacción con el aparato de translocación explicaría mejor el mecanismo de inmunidad, ya que la probabilidad de encuentro y asociación sería mayor, aunque no se puede descartar una interacción con la microcina E492. Para investigar el mecanismo de acción de la proteína MceB, se mutagenizó *in vitro* con hidroxilamina el plasmidio p157, que tiene clonado el gen *mce*B. Se analizaron 20.000 transformantes mediante réplica de placa sobre cesped *E.coli* JEM15 (cepa productora de microcina), seleccionándose aquellas que perdieron la inmunidad (no crecimiento). Se obtuvieron 25 mutantes agrupadas en tres clases de acuerdo a la pérdida total o parcial de inmunidad a la microcina E492. La caracterización molecular de las mutantes nos permite definir cuales dominios de MceB son importantes para su acción.
Financiado por Proyecto FONDECYT 1991017 y 2990028.

EXPRESION DE LOS GENES ASOCIADOS CON LA PRODUCCION DE LA MICROCINA E492 (Expression of genes asociated with the production of microcin E492) Corsini, G., Hetz, C. y Lagos, R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La microcina E492 es un antibiótico polipeptídico de M_r 6000 producido y secretado por *Klebsiella pneumoniae* RYC492. Su mecanismo de acción es por despolarización de la membrana citoplasmática de las células blanco mediante la formación de canales iónicos. Los componentes genéticos asociados a la producción e inmunidad de la microcina E492 fueron clonados, secuenciados y expresados de *E. coli*, encontrando la participación de 10 genes. La microcina E492 es la única descrita en que su síntesis es realizada mayoritariamente en fase exponencial de crecimiento, fenómeno que no es regulado por el factor sigma de fase estacionaria (*rpoS*).
En este trabajo se caracterizaron las secuencias promotoras del operón de la microcina (*mceAB*) y se analizaron los patrones de expresión de los determinantes genéticos participantes en su producción. Se determinó que el gen de la microcina (*mceA*) y el gen de la inmunidad (*mceB*) se transcriben juntos bajo un mismo promotor y que no se observan diferencias en su expresión en fase exponencial y estacionaria de crecimiento. Al analizar la transcripción de los genes *mceI* y *mceJ*, asociados con la síntesis y maduración de la microcina, se observó una disminución en su expresión en fase estacionaria de crecimiento. Se discutirá un posible modelo de regulación de la expresión de la microcina.
FONDECYT 1991017.

CARACTERIZACION GENETICO MOLECULAR DE GENES DE CAROTENOGENESIS DE *Xanthophyllomyces dendrorhous* (*Phaffia rhodozyma*). (Molecular genetic characterization of the carotenogenesis genes from *Xanthophyllomyces dendrorhous*). Alcaíno,J.[1]; Allers,C.[1]; Barahona,S.[1]; León,R.[2]; Martínez,C.[1]; Quatrini,R.[1]; Sepúlveda,D.[1]; Valencia,A.[1] & Cifuentes,V.[1] 1: Lab Genética, Depto Cs. Ecológicas, Facultad de Ciencias y 2: Depto Cs. Físicas y Químicas, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. e-mail:vcifuent@uchile.cl.

En nuestro laboratorio estamos estudiando el control genético de la síntesis de astaxantina en la levadura carotenogénica *Xanthophyllomyces dendrorhous*. Según nuestros datos, tanto el control genético como de su regulación es un proceso complejo. La ruta general consta de dos etapas principales, siendo la primera la síntesis de β-caroteno por la vía: Isopentenil pirofosfato → Dimetilalil-pirofosfato → Geranil-pirofosfato → Geranilgeranil pirofosfato → Fitoeno → Licopeno → β-caroteno. La segunda etapa es la síntesis de astaxantina desde β-caroteno mediante la vía: β-caroteno→ equinenona→ 3-hidroxi-equinenona→ fenicoxantina→ astaxantina.
Mediante análisis de secuencias de DNA de genes de carotenogénesis se diseñó diferentes partidores posteriormente utilizados en reacciones de PCR, usando DNA genómico de la cepa UCD-67-385. Como resultado se logró amplificación de fragmentos de aproximadamente: 3.0 kb gen *idi*; 1.0 y 2.0 kb gen GGPP-sintetasa; 2.0 kb gen de fitoeno sintetasa; 3.5 kb gen de fitoeno deshidrogenasa; 0.7, 0.9, 1.0, 1.1 y 1.5 kb gen betacaroteno-hidroxilasa y 0.5 y 2.0 kb gen betacaroteno-oxigenasa. Posteriormente, se ha clonado el fragmento de 2.0 kb de fitoeno sintetasa (en etapa de secuenciación), el gen de fitoeno deshidrogenasa (secuenciado completamente) y los fragmentos de betacaroteno-hidroxilasa (en etapa de secuenciación). El análisis molecular sugiere la existencia de variabilidad genética en esta levadura.
Financiamiento: Fondecyt 197-0456.

EFECTO DE METALES SOBRE LA EXPRESION DE GENES LIGNINOLITICOS EN *Ceriporiopsis subvermispora* (Metal-regulated expression of ligninolytic genes from *Ceriporiopsis subvermispora*). Polanco[1#], R., Avila[1], M., Salas[1], L., Larrondo[1*], L.F., Vicuña[1], R., Tello[2], M., Lobos[2], S., Seelenfreund[2], D., 1Departamento de Genética Molecular y Microbiología, F.C.B., PUC.,2Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, F.C.Q.F., UCh.
Ceriporiopsis subvermispora, hongo ligninolítico que secreta varias enzimas al medio extracelular, entre las que se encuentran manganeso-peroxidasa(MnP) y lacasa. Cuando el hongo crece en medio líquido, ambas actividades enzimáticas son detectadas como una familia de isoenzimas, diferenciadas por su punto isoeléctrico que varía según el medio. Las actividades de MnP y lacasa no son detectadas en ausencia de Mn y Cu, respectivamente.
Se han secuenciado cuatro genes de MnP (*Cs-mnp1, Cs-mnp2a, Cs-mnp2b* y *Cs-mnp3*) y uno de lacasa (*Cs-lcs1*). Las regiones río arriba de los genes *Cs-mnp* presentan sitios putativos MRE(metal-response-element). La región promotora de *Cs-lcs1* también posee estos sitios, más un elemento tipo ACE. Este último se ha descrito en *S. cerevisiae* como una secuencia que es reconocida por un factor transcripcional que responde a Cu(I) y Ag(I), pero no a Zn(II).En *C. subvermispora*, el efecto de estos metales sobre la transcripción de *Cs-lcs1* sigue el mismo patrón, sugiriendo la existencia de un factor transcripcional específico para sitios ACE.
Sobre los sitios MRE, se sabe que la transcripción de los genes *Cs-mnp2a* y *Cs-mnp2b* es regulada por Mn, aunque no se ha establecido una relación causal entre ambos. La acción de otros metales está en estudio.
Becario CONICYT. * Becario Fundación Andes. FONDECYT 1971239.

EXPRESION HETEROLOGA DE MANGANESO PEROXIDASA DE *C. subvermispora* EN *Aspergillus nidulans*. (Heterologous expression of MnP1 from *C. subvermispora* in *A. nidulans*).

Larrondo[1*], L.F., Stewart[2], P., Cullen[2] D., Lobos[3] S. y Vicuña[1] R. 1. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, 2. Bacteriology Department, University of Wisconsin-Madison, EE.UU. 3. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, F.C.Q.F., U.Ch.

El basidiomicete de pudrición blanca *Ceriporiopsis subvermispora* posee un sistema ligninolítico constituido por Mn-peroxidasa (MnP) y lacasa. MnP se expresa como un conjunto de isoenzimas extracelulares que muestran diferentes puntos isoeléctricos de acuerdo al medio en el que es crecido el hongo. Debido a la similitud de sus propiedades físicas, el estudio particular de estas enzimas se hace difícil. En un intento por superar este obstáculo, hemos logrado la expresión de MnP1 en *Aspergillus nidulans*. El cDNA de CsMnP1 fue expresado en este hongo filamentoso bajo el control del promotor de alfa-amilasa de *A. oryzae* y de un terminador de *Aspergillus*. Análisis de southern blot muestran integraciones múltiples de las construcciones a nivel cromosomal. La expresión se ve inducida por maltosa y maltodextrina, pero no así por glucosa. Estudios preliminares indican que las propiedades físicas y cinéticas de la enzima se mantienen. La exitosa expresión de MnP en *Aspergillus* abre así las puertas a futuros estudios de expresión y mutagénesis, los cuales debido a las características de la proteína son difíciles de lograr en otros sistemas de expresión como *E. coli* o levadura.

* Becario de Fundación Andes. Financiado por FONDECYT 8990004

EVALUACION DEL SISTEMA DE SECRECION TIPO I DE *Erwinia chrysanthemi* EN *E. coli* UTILIZANDO QUIMERAS GENICAS FUSIONADAS A SEÑAL DE SECRECION DE PROTEASA B DE *E. chrysanthemi* (Evaluation of *Erwinia chrysanthemi* type I secretion system using chimeric genes that included *E. chrysanthemi* protease B secretion signal).

Palacios, J.L., Opazo, J.P. Martínez, P. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

E. chrysanthemi es un fitopatógeno que posee el sistema de secreción tipo I (independiente de péptido señal) para exportación de proteasas al medio externo y requiere tres componentes de membrana que reconocen una señal del extremo carboxilo terminal de la proteína. Se evaluó este sistema en *E. coli*, utilizando proteínas globulares con puentes disulfuro como la hormona de crecimiento de trucha (tGH2) y eritropoyetina humana (hEPO) unidas a la señal se secreción, para determinar el efecto de rigidez de estructura terciaria en la secreción.

Se amplificaron los cDNAs por PCR y se los fusionó con la señal de secreción (últimos 93 aa) de la proteasa B de *E. chrysanthemi* (CTPrtB) y se pesquisaron los híbridos en lisado total y sobrenadante del cultivo. Se comparó la secreción de éstos con una fusión β-galactosidasa/CTPrtB de 180 aa obtenida por similar estrategia. Para evaluar secreción en *E. coli* se incorporó además el sistema secretor de *E. chrysanthemi* (plásmido pRUW4). La secreción se analizó por Western Blot.

Se detectó secreción del híbrido β-galactosidasa/CTPrtB. En contraste, las construcciones quiméricas tGH2/CTPrtB y hEPO/CTPrtB sólo se detectaron en lisado total.

Financiado por FONDECYT Nº 1971010.

ESTUDIOS DE TRANSCRIPCION POR RNA POLIMERASA II EN *S.pombe*. (Functional studies of transcription by RNA polymerase II in *S.pombe*).

Soto, X., Cabrejos, M.E., Morales, C., Tamayo, E., y Maldonado, E. Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago 7, Chile.

El proceso de transcripción de genes codificantes y de pequeños snRNAs en eucariontes, es desarrollado por la maquinaria de RNA polimerasa II (RNAPII). Este proceso de alta eficiencia y precisión requiere del ensamblaje de un conjunto de proteínas sobre secuencias reguladoras del templado, así como del remodelaje de la cromatina que facilita el acceso de las proteínas a las secuencias blanco presentes en el DNA.

En un esfuerzo por entender y caracterizar el proceso de transcripción en humanos es que planteamos nuestro principal objetivo, que es desarrollar un sistema de transcripción para RNAPII *in vitro* en *S.pombe*, una levadura cuyos procesos de transcripción son muy similares a los de los humanos. Para ello se utilizará un sistema con templados de DNA ensamblados en cromatina y se reconstituirá la actividad de la polimerasa. Se pretende además analizar los mecanismos responsables de la regulación de la formación del complejo de preiniciación y la formación del transcrito, mediante técnicas de biología molecular y posteriormente, mediante métodos genéticos.

En este trabajo describimos la obtención de un extracto celular de S.pombe que es activo en transcripción por RNAPII, dado que esta actividad es sensible a α-amanitina [10 mg/mL]. A partir de este extracto se ha purificado RNAPII a homogeneidad mediante técnicas cromatográficas. Por otra parte, se han clonado diversas subunidades homólogas a los factores generales de transcripción (TFIIs) de humanos y *S.cerevisiae*, mediante la amplificación de las secuencias génicas por PCR utilizando partidores específicos. Se han expresado las proteínas recombinantes, purificado y se han producido anticuerpos contra varias de ellas. A la fecha contamos con los siguientes factores de transcripción: TFIIB, TFIIF (Rap30), TFIIE (p34) y TFIIH (p62).

QUITINASAS, GLUCANASAS Y PROTEASAS DE *Trichoderma* (Chitinases, glucanases and proteases from *Trichoderma* isolates).

Velásquez, J. C., Gutiérrez, A., Zurita, A y, Gidekel, M: Dep. Bioq. Biol. Mol. Fac. Cs. Quím. Farm., U. De Chile. E-mail: lperez@abello.dic.uchile.cl

Los hongos del género *Trichoderma*, son ampliamente usados para el control de microorganismos patógenos de plantas. Sin embargo, existen diferencias entre aislamientos con relación a las proteínas que expresan para efectuar dicho control, lo cual depende del patógeno a controlar.

Se analizó la excreción de quitinasas, β-1,3-glucanasas y proteasas de las seis cepas de *Trichoderma* en sobrenadantes de cultivos líquidos usando como sustrato paredes de *Venturia inaequalis* o de *Alternaria alternata*. Para ello, las proteínas se separaron en geles nativos, y cada actividad se visualizó incubando los geles con el sustrato respectivo. La actividad de exoquitinasa se cuantificó espectrofotométricamente. La transcripción de *ech42* y de *prb1* durante la interacción antagonista patógeno se analizó a través de Northern blots.

Todos los aislamientos de *Trichoderma* excretaron quitinasas, β-1,3-glucanasas y proteasas, diferenciándose entre ellos tanto al nivel de la actividad excretada como de su patrón isoenzimático. Al comparar la respuesta de cada cepa frente a los patógenos, no se puede establecer un patrón común de isoenzimas y/o de actividad. La transcripción de *ech42* y de *prb1* también fue diferente para cada *Trichoderma*.

Estos resultados nos permitirán seleccionar los mejores aislamientos para controlar *Venturia* y *Alternaria* de acuerdo al mayor nivel de expresión de las enzimas.

Financiado por proyecto AT-11 (FDI- CORFO).

BIOTECNOLOGIA I

DESARROLLO DE UN ELISA-PCR PARA LA DETECCIÓN DE *Piscirickettsia salmonis*. (Development of an ELISA-PCR to detect *Piscirickettsia salmonis*). Mannherz, O. y Aguayo, J. (Patrocinio L.O. Burzio). BiosChile I.G.S.A. y Fundación Ciencia para la Vida, Avda. Marathon 1943, Santiago.

Una de las vías de infección de salmones por *P. salmonis* sería por transmisión vertical, por lo que se hace necesario contar con un ensayo de alta sensibilidad para detectar el patógeno en ovas. Con este objeto desarrollamos un ensayo de ELISA-PCR, que es alrededor de 100 veces más sensible que PCR, es más específico y permite el procesamiento simultáneo de un gran número de muestras.
Se inmovilizó estreptavidina en placas de microtítulo mediante el uso de un adhesivo de molusco (Pegotina). Posteriormente la placa se bloqueó y se secó a 37° C por 1 h. Previo a cada ensayo se inmovilizó un oligonucléotido-3'-biotina de 25 bases específico para el RNA 16 S. La amplificación de un fragmento de 408 pb se realizó con 1 uM de digoxigenina-11-dUTP. El producto de PCR se denaturó a 100° C y alícuotas se aplicaron a cada pocillo en la solución de hibridación. Después de 60 min. a 45° C, las placas se lavaron y se incubaron con anti-digoxigenina conjugado con peroxidasa. El resto del ensayo fue un ELISA convencional. El método no muestra reacción cruzada con 10 patógenos de peces. Con DNA de *P. salmonis* se puede detectar entre 2 a 4 copias del genoma, y en ovas se detectaron entre 10 a 20 bacterias.

ACTIVIDAD FOSFATASICA Y SU RELACION CON GLOMALINA, UNA PROTEINA ESTABILIZADORA DE SUELOS. (Phosphatase activity and its relation with glomalin, one protein that stabilize soils). Morales, A.[1], Alvear,M[1]., Borie, F[1]., Crovetto, C[2]. 1: Universidad de La Frontera, Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración, Departamento Ciencias Químicas. 2: Presidente de la Sociedad de Conservación de Suelos de Chile. Dueño de Fundo Chequén, bajo Cero Labranza.

El suelo es un sistema complejo de fundamental importancia para el desarrollo de cualquier planta; siendo entonces necesario entender los procesos que en él ocurren, en especial los fenómenos biológicos y bioquímicos. En este sentido, las enzimas tienen un papel de primer orden en el ciclado y disponibilidad de nutrientes que la planta utiliza, tales como fósforo, nitrógeno y azufre.
Entre las enzimas del suelo se puede mencionar a las fosfatasas, las que incrementan los niveles de fósforo disponible para la planta; por otro lado, se ha encontrado una proteína estabilizadora de suelo, la que evita su disgregación. Esta proteína se llama glomalina y es producida por los hongos micorriza arbusculares. Por lo anterior, resulta interesante dilucidar si esta proteína participa en mecanismos que permitan dar mayor estabilidad a las enzimas del suelo; luego, el objetivo del trabajo fue determinar si existe una correlación entre los niveles de fosfatasa y glomalina en suelos alfisoles bajo cero labranza. Los resultados señalan una significativa correlación entre ambas proteínas. En la actualidad se trabaja con otras enzimas involucradas en el ciclado de nutrientes.
Agradecimientos: Proyectos DIDUFRO N°9810 y FONDECYT 1990756

CUANTIFICACION POR HIBRIDACION CON SONDAS rRNA 16S DE GRUPOS TROFICOS METANOGENICOS SOBRE SOPORTES INERTES EN REACTORES ANAEROBIOS. (Quantification by 16S rRNA probe hybridization of methanogenic trophic groups upon inert supports on anaerobic biological reactors). Vidal, R., Alarcón, M., Vidal, M., Aspé, E. y Urrutia, H. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Los estudios de ecología microbiana de poblaciones anaerobias, desarrollados en ambientes naturales o sistemas de ingeniería, se ven limitados ya que sólo una pequeña fracción de los microorganismos presentes puede ser cultivada e identificada. En estos ambientes, es sabido que el conocimiento de la comunidad de bacterias metanogénicas, particularmente compleja en términos de cultivo, aislamiento e identificación, es esencial para tener un control efectivo de la puesta en marcha y operación de posibles bioreactores de digestión anaerobia. En este trabajo, se estudió la estructura de la comunidad bacteriana metanogénica, que inicia la colonización de soportes inertes, mediante el empleo de sondas rRNA 16S. Los estudios se realizaron para cada uno de los grupos metanogénicos definidos filogenéticamente dentro del dominio *Archaea*. La cuantificación se realizó por hibridación del rRNA 16S con sondas marcadas con digoxigenina. En los sistemas ensayados se observó, en promedio, que la concentración de rRNA 16S bacteriano fue de 10% ± 0.5% y para Archaea 87.6% ± 5.2%. Por las condiciones de laboratorio se asume que las únicas Archaea presentes corresponden a bacterias metanogénicas. Además, se observó que Methanosarcinaceae y Methanobacteriaceae fueron las familias más numerosas.
Financiado por Proyecto FONDECYT N° 2990052 - 1980140

DETECCION DE COBRE Y MERCURIO POR BIOSENSORES BIOLUMINISCENTES. Copper and mercury detection through bioluminiscent biosensors. Moya,P. y Ramos, M. Departamento de Ciencias Biológicas. Universidad de Santiago de Chile.

Se han utilizado muchos métodos analíticos, tales como espectroscopía de absorción y emisión atómica, de masa y cromatografía líquida de alta presión para detectar y medir metales en muestras ambientales. Sin embargo, éstas técnicas sólo pueden detectar la concentración total del analito, y no proporcionan información acerca de la fracción de éste que se encuentra de forma biodisponible. Este tipo de información, vital en el desarollo de estrategias de biodegradación y biorremediación, puede ser obtenida directamente por el uso de biosensores.
En nuestro laboratorio han sido desarrollados diferentes biosensores bioluminiscentes. Ellos son bacterias modificadas genéticamente, que tienen un sistema de genes reporteros, capaces de emitir luz visible, bajo el control de elementos genéticos regulatorios que son activados por el metal particular. De este modo, en presencia del metal, los biosensores emiten luz en una manera proporcional a la concentración del metal, con una especificidad y sensibilidad comparables a los otros métodos mencionados.
En este trabajo se describen las propiedades y ventajas del uso de los biosensores para la detección de cobre o mercurio. Las muestras analizadas incluyen diversas muestras ambientales, como aguas de relave de minería, y agua potable trasladada por cañerías de cobre. Además se presentan estudios de inmovilización de biosensores en matrices poliméricas, desarrollados con el fin de obtener un método de análisis de más fácil acceso a personas sin conocimientos microbiológicos.
Financiamiento: Proyectos Dicyt-USACH y CIMM-ICA.

CARACTERIZACION MOLECULAR DE CEPAS NATIVAS DE *Saccharomyces* DE LA REGION VITIVINICOLA CENTRAL (Molecular characterization of indigenous *Saccharomyces* strains from vineyards in central Chile). Ganga, A[1]., Yañez K[1]., Villarreal, A[2]., Cifuentes, V[2]. y Martínez, C[2]. [1]Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Santiago de Chile y [2] Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La fermentación alcohólica es el resultado de la acción conjunta de varias especies de levaduras que crecen en sucesión durante dicho proceso, predominando sólo aquéllas pertenecientes al género *Saccharomyces* caracterizadas por una mayor capacidad fermentativa y mayor tolerancia a etanol. Debido a esto, numerosas bodegas nacionales inoculan sus mostos con cepas comerciales cuya procedencia geográfica distante ha sido descrita como una fuente potencial de las detenciones prematuras de la fermentación. Con el objeto de seleccionar cepas mejor adaptadas a nuestras condiciones productivas es necesario conocer detalladamente la flora levaduriforme nativa y su comportamiento en procesos fermentativos locales.
En este trabajo realizamos una caracterización de poblaciones de levaduras nativas de la zona vitivinícola central, tanto en el proceso pre como post fermentativo. Para ello utilizamos técnicas microbiológicas clásica y moleculares (restricción del mtDNA, CHEF, AP-PCR y restricción de ITS en rRNA). Esto nos ha permitido contar con un estudio detallado de las especies de levaduras presentes en cada zona de recolección, buscar relaciones zona/especie que favorezcan el proceso fermentativo y determinar relaciones de similitud genética entre estos y otros aislados geográficamente distantes.
Financiado: FONDECYT 1990040, FONDEF D98I1037 y DICYT 019995 GM.

EXPRESION DE MODULOS GENICOS *tfd*$C_I D_I E_I F_I$ Y *tfd*$D_{II} C_{II} E_{II} F_{II}$ DEL CATABOLISMO DE CLOROAROMATICOS EN *Ralstonia eutropha* JMP134 (Expression of *tfd*$C_I D_I E_I F_I$ and *tfd*$D_{II} C_{II} E_{II} F_{II}$ gene modules of chloroaromatic metabolism in *Ralstonia eutropha* JMP134). Pérez-Pantoja, D., Manzano, M., y González, B. Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Ralstonia eutropha JMP134 (pJP4) degrada diversos contaminantes cloroaromáticos y es capaz de utilizar, entre otros compuestos, 3-clorobenzoato (3-CB) como única fuente de carbono y energía. La capacidad para degradar los clorocatecoles generados durante el crecimiento en 3-CB se encuentra codificada en dos módulos de genes *tfd* (*tfd*$C_I D_I E_I F_I$ y *tfd*$D_{II} C_{II} E_{II} F_{II}$) presentes en el plasmidio pJP4. El rol de estos módulos en el crecimiento en 3-CB, no es completamente comprendido. En este trabajo se estudia la expresión de los dos módulos clonados en un vector de número intermedio de copias, y su relación con la capacidad de derivados de *R. eutropha* para crecer en 3-CB.Los dos módulos fueron clonados, con sus respectivas secuencias regulatorias y bajo el control del regulador *tfd*R, en forma independiente en el vector de amplio rango de huésped pBBRMCS-2 dando origen a los plasmidios pBBRM-I y pBBRM-II. Estas construcciones fueron introducidas en *R. eutropha* JMP222 (derivada de JMP134 carente de pJP4), cepa capaz de acumular 3-clorocatecol a partir de 3-CB. Ambas cepas derivadas fueron capaces de crecer eficientemente en 3-CB. JMP222(pBBRM-I) creció con una velocidad cuatro veces mayor que la presentada por JMP222(pBBRM-II)(g = 3,4h vs g = 13,4h), y con rendimientos superiores. Se observó actividad diferencial de las enzimas clorocatecol dioxigenasa (TfdC), cloromuconato cicloisomerasa (TfdD), y maleilacetato reductasa (TfdF) en ambos módulos, aunque las especificidades por sustrato fueron similares.
Estos resultados sugieren que el crecimiento en 3-CBA requiere ya sea la presencia de ambos módulos como ocurre en la cepa silvestre o un incremento de la dosis génica de cada módulo cuando se encuentran por separado.
Financiado por proyecto FONDECYT 8990004 de líneas complementarias.

TRANSFECCION DE *Botrytis cinerea* CON UN RNA HIPOVIRAL (Transfection of *Botrytis cinerea* with a hypoviral RNA) Castro, M[1]., Valdivia, L[1]., Kramer, K[1]., Ortiz, S[1]., Benavente, J[2]. y Castillo, A[1]. [1]Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Casilla 40, Correo 33, Santiago, Chile. E-mail: acastill@lauca.usach.cl. [2]Departamento de Bioquímica, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

En este trabajo se proporcionan resultados obtenidos mediante la transfección de esferoplastos de *Botrytis cinerea* con transcritos generados *in vitro* correspondientes a la hebra codificante del L-dsRNA causante de la hipovirulencia de *E. parasitica.*
Como primera etapa fue necesario aislar y caracterizar una cepa virulenta, *B. cinerea* 149, carente de elementos genéticos extracromosómicos que se utilizó como cepa receptora de los transcritos hipovirales en los experimentos de transfección. Para la obtención de los transcritos, se utilizó como templado el plásmido pLDST lineal que contiene un inserto de cDNA correspondiente al L-dsRNA de *E. parasitica* EP713. La población de esferoplastos sometidos a electroporación, se inoculó en un medio de regeneración y se incubó a 20°C hasta obtener abundante cantidad de micelio. A partir de estos cultivos fue posible recuperar una molécula de dsRNA, purificada por cromatografía en celulosa CF-11 y caracterizada en geles de agarosa, de idéntico tamaño molecular que el L-dsRNA de *E. parasitica* EP713, lo que indica que se trata del mismo ácido nucleico. En una segunda etapa se determinaron algunos parámetros asociados a la virulencia del hongo, actividad de lacasa y tasas de conidiación, tanto en la cepa silvestre como en el transfectante, *B. cinerea* 149EP. Tanto la actividad de lacasa como la conidiación se ven disminuídas en el transfectante cuando se comparan con los datos obtenidos de la cepa silvestre. Finalmente, se realizaron bioensayos de virulencia inoculando directamente conidios y micelio de la cepa silvestre y del transfectante sobre hojas de plantas de poroto, no visualizándose diferencias importantes en la cuantía del daño producido sobre el tejido vegetal.
Financiado por FONDECYT 1961233 y DICYT - USACH.

INMUNIZACION GENETICA DE SALMONIDEOS (Genetic immunization of salmonids) Ferrer, P. Miquel, A., Muller, I. y Valenzuela, P. BiosChile I.G.S.A. y Fundación Ciencia para la Vida, Avda. Marathon 1943, Santiago.

Piscirickettsia salmonis es el agente etiológico del Sindrome Rickettsial de Salmonídeos (SRS) que afecta la industria salmonera. Debido a que las medidas terapéuticas tales como el uso de antibióticos han demostrado ser ineficientes en el control de esta enfermedad, se hace necesario explorar otras estrategias de profilaxis. Este trabajo describe una alternativa al uso de vacunas tradicionales como es la inmunización con genotecas de expresión construidas con el ADN de *P. salmonis*. Se preparó una biblioteca con el ADN de alta pureza del patógeno en el vector pCMV-Bios. Con el ADN plasmidial purificado de 1000 ml de cultivo de *E. coli* se inmunizaron dos grupos de salmones coho con dosis de 20 ug y 10 ug en forma intramuscular. Como control se usaron peces inyectados con el ADN purificado del vector solo. Los peces fueron desafiados con el patógeno 70 días posteriores al refuerzo. Los resultados de ELISA y Western blot indican que hay respuesta inmune específica (IgM anti-*P. salmonis*). Además se observó que la carga bacteriana en riñón de salmones desafiados con el patógeno y detectada por inmunofluorescencia con un anticuerpo monoclonal anti-*P. salmonis*, fue significativamente menor en los peces inmunizados respecto a los controles. Ratones Balb/c inmunizados con dosis de 5 a 200 µg de ADN mostraron una respuesta inmune determinada por ELISA que fue dependiente de la dosis.

BIOLOGIA CELULAR VII

SOBREEXPRESION DE *"STEROL CARRIER PROTEIN-2"* POR ADENOVIRUS EN EL HIGADO, INCREMENTA LA SECRECION DE LIPIDOS BILIARES Y ALTERA EL PERFIL LIPOPROTEICO PLASMATICO. (Adenovirus-mediated hepatic overexpression of sterol carrier protein-2 leads to increased biliary lipid secretion and altered plasma lipoproteins). Amigo, L[1]., Mendoza, H[1]., Zanlungo, S[1]., Vio,CP[2].y Nervi, F[1].Deptos. de [1]Gastroenterología y de[2]Ciencias Fisiológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Sterol carrier protein-2 (SCP-2) tiene un rol importante en el tráfico intracelular de colesterol. Nuestro objetivo fue caracterizar la función de esta proteína en el metabolismo del colesterol hepático *in vivo* y demostrar su rol en la secreción de lípidos biliares. Se sobreexpresó SCP-2 en hígado de ratones mediante el uso de adenovirus. Se infectaron ratones C57bl/6J con adenovirus recombinante SCP-2 (Ad.rSCP-2) y se compararon con ratones sin infectar y ratones infectados con adenovirus sin SCP-2 (Ad.E1).Se estudió secreción de lípidos biliares, colesterol hepático y perfil lipoproteico plasmático (n=6-11).

La infección con Ad.rSCP-2 aumentó en forma significativa la expresión hepática de SCP-2, secreción biliar de colesterol, fosfolípidos y sales biliares. En estos ratones el colesterol hepático aumentó un 100% y el contenido total de sales biliares un 14% ($p \leq 0.025$). Las lipoproteínas plasmáticas se modificaron: el colesterol-HDL disminuyó 18% y el colesterol-LDL aumentó 145%. El receptor de LDL disminuyó un 34%.

La sobreexpresión hepática de SCP-2 incrementa la secreción de lípidos biliares y altera el perfil lipoproteico. SCP-2 regula el tráfico de colesterol en el hígado, modificando el metabolismo lipoproteico y la secreción de lípidos biliares.

(Fondecyt 1971092).

DIFERENCIACION GLIAL ACTIVADA POR RECEPTORES DE ACIDOS GRASOS: PPARS (Glial differentiation activated by Fatty Acid Receptors: PPARs) Leisewitz, A. y Roth A.. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile (Patrocinio: Dr. Miguel Bronfman)

Los PPARs (peroxisome proliferator activated receptors: α, β & γ) son receptores nucleares activados por ácidos grasos y sus derivados metabólicos. Los PPARs regulan la expresión de múltiples genes relacionados con el metabolismo lipídico y están involucrados en la diferenciación de varios linajes celulares. PPARα media las respuestas de proliferación peroxisomal, de inducción de varios sistemas enzimáticos, y de síntesis de apoproteínas, mientras que el PPARγ esta involucrado en diferenciación celular. La función especifica de PPARβ no ha sido determinada. Poco o nada se sabe si estos factores de transcripción están involucrados en metabolismo lipídico o en fenómenos de diferenciación celular en el sistema nervioso. Reconociendo la importancia del metabolismo lipídico para las células neurales, caracterizamos que la línea celular glial B12 expresa marcadores específicos de oligodendroglias (CNPase, MOSP, β-Galactocerebrosido, posee abundantes peroxisomas y responde a proliferadores peroxisomales (ciprofibrato) con aumento de la expresión de acyl-CoA oxidasa, considerada un marcador de proliferación peroxisomal, resultado que sugiere la presencia de PPARα funcional en estas células. Apoyando esta hipótesis, se encontró que las células B12 expresan las tres isoformas de PPAR (determinado por RT-PCR usando partidores específicos). La troglidazona, considerado un ligando específico de PPARγ, aumenta la proliferación de las células B12 a baja concentración, mientras que a concentraciones más altas induce diferenciación celular. Wy14603 (activador específico de PPARα) y Bezafibrato (activador moderado de PPARβ) inhiben levemente la proliferación celular, pero no generan diferenciación morfológica. Estos resultados sugieren, por primera vez, que PPARγ podría están involucrado en diferenciación celular en el sistema nervioso (financiado Fondecyt, proyectos 2980023 y 1990155 y Cátedra Presidencial en Ciencias a M.Bronfman).

UN EFECTO "BYSTANDER" PARA LA ADQUISICIÓN Y RECICLAJE DE VITAMINA C EN CÉLULAS HUMANAS. (A bystander effect for the acquisition and recycling of vitamin C in human cells). Nualart, F., Vera, J. C. Rivas, C. I. Departamentos de Histología y Embriología, y Fisiopatología, Universidad de Concepción; Program in Molecular Pharmacology and Therapeutics, MSKCC, New York.

Aunque células humanas pueden transportar la vitamina C en su forma reducida (ácido ascórbico) u oxidada (ácido deshidroascórbico), ella se encuentra en la sangre sólo como ácido ascórbico. Hemos utilizado un sistema de co-cultivo *in vitro* para demostrar que células humanas incapaces de transportar el ácido ascórbico obtienen vitamina C como ácido deshidroascórbico por un mecansimo acoplado de tres etapas: oxidación-transporte-reducción. La oxidación del ácido ascórbico ocurre por la acción de radicales libres generados por células con una respuesta oxidativa activada. La vitamina C oxidada así generada es transportada no solamente por las células activadas sino por cualquier célula vecina, incluyendo aquellas células incapaces de montar una respuesta oxidativa. Una vez transportada, la vitamina C oxidada es inmediatamente reducida y se acumula intracelularmente como ácido ascórbico. Esta cooperación entre células vecinas, conocida como efecto «bystander», permitiría no solamente la obtención de vitamina C por células incapaces de transportar el ácido ascórbico, sino que es también central para el reciclaje y recuperacón de la vitamina C *in vivo*, lo que es fundamental para mantener los niveles normales de esta vitamina en el organismo.
Grants NIH CA30388, FONDECY T1980130 y 1990333, DIUC 96035001-1.

LA REGENERACION AXONAL DE RATONES WLD^S ES NORMALIZADA POR ACTINOMICINA D (ActD). (Nerve regeneration in Wld^s mice is normalised by actinomycin D). Court, F. Unidad de Neurobiología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. (Patrocinante: J. Alvarez).

Los axones degeneran distal a una lesión, produciéndose luego la regeneración desde el sitio de lesión. En contraste, en el ratón Wld^s, la lesión no se sigue de degeneración ni de regeneración. Se ha sugerido que el axón tiene un programa para brotar el cual es reprimido por la célula de Schwann normal, pero no cuando está alterada. Propongo que en el ratón Wld^s, la célula de Schwann distal al sitio de lesión sigue normal, lo cual impide la regeneración.
ActD, un inhibidor de transcripción, se administró a nervios intactos control o Wld^s. La ultraestructura del nervio reveló restos de células de Schwann y de otras células residentes, pero los axones estaban intactos y con brotes. Nervios Wld^s expuestos a ActD y lesionados al tercer día, regeneraban a la velocidad normal, no así cuando se administraba vehículo, o cuando la lesión se efectuaba distal al segmento tratado.
Concluyo que el axon Wld^s tiene el programa para brotar, y que la regeneración espontánea en esta cepa está impedida por las células residentes del segmento distal a la lesión, probablemente la célula de Schwann que sigue diferenciada.

CAPTACION Y TRANSPORTE DE HIERRO EN CELULAS QUE SOBRE-EXPRESAN LA PROTEINA HFE. (Iron Uptake and transport in cell overexpressing HFE protein) Arredondo, M., Muñoz, P., Núñez, MT. Lab. Membranas Biológicas, Depto. Biología, Fac. Ciencias, Universidad de Chile. (Patrocinante: Dr. MT. Núñez)

La hemocromatosis hereditaria (HH) es una enfermedad autosómica recesiva, asociada a MHC clase II, que se caracteriza por una falla en la regulación de la absorción de Fe, un aumento en la saturación de la transferrina (Tf) y un progresivo depósito de Fe en las células parenquimales de algunos órganos. La proteína HFE nativa, cuyo gen mutado es el responsable de la HH interactúa directamente con el receptor para transferrina (RTf) en el dominio extracelular de la membrana plasmática disminuyendo la afinidad del RTf por la Tf. Con la hipótesis que la sobre-expresión de la proteína HFE en células de epitelio intestinal desregula el transporte transepitelial de Fe, células de epitelio intestinal (Caco-2) fueron transfectadas con el cDNA que codifica para la proteína HFE (pcDNA3-HFE) y cultivadas en medio DMEM, 10% SFB con bajo (0.5 μM) y alto (20 μM) Fe. La proteína HFE fue cuantificada por ELISA y su RNA fue estudiado por northern blot. Con el objeto de realizar experimentos de captación y transporte, las células transfectadas fueron crecidas en insertos bicamerales por 14 días en iguales condiciones descritas anteriormente. Las células que sobre-expresen la proteína HFE presentaron una disminución en la captación y transporte de Fe, comparadas con células control. Estos resultados demuestran que HFE ejerce un control negativo sobre la absorción intestinal de Fe.
Financiamiento: Fondecyt 1970465 y Fondecyt Doctorado 2990116

UN MECANISMO INTRINSECO DE AGREGACION DE GRANULOS CROMAFINES (An intrinsic mechanism for the aggregation of chromaffin granules). De la Fuente, M. y Sepúlveda, C. Programa de Fisiología y Biofísica, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las preparaciones de gránulos cromafines aislados constituyen un buen modelo *in vitro* para el estudio de los procesos moleculares involucrados en la fusión de membranas durante la exocitosis. En el curso de un estudio sobre la agregación y fusión de gránulos cromafines por anexina II, encontramos que bajo ciertas condiciones era posible evidenciar agregación de los gránulos cromafines en ausencia de anexinas. Esta agregación (que llamamos "intrínseca") ocurrió tanto entre gránulos como entre gránulos y liposomas de fosfatidil serina. La agregación fue óptima a un pH débilmente ácido, requirió calcio (pero no Mg^{2+}), y fue activada por KCl, todo lo cual es análogo a las propiedades de la agregación por anexina II. El proceso requiere una proteína de la membrana ya que fue completamente inactivado cuando los gránulos se pretrataron con tripsina o proteinasa K. Esto y la coagregación gránulos-liposomas sugiere como mecanismo de la agregación intrínseca que una proteína de la membrana de un gránulo interactuaría con los fosfolípidos de la membrana de otro gránulo. Postulamos que esta proteína constituiría con anexina II un sistema que promueve agregación de los gránulos, pero no participaría en la fusión de membranas, pues la agregación intrínseca no fue seguida por fusión de membranas (como ocurre en presencia de anexina II).
Financiado por Fondecyt (Proyecto 1970175)

EXPRESION DIFERENCIAL DE PROTEOGLICANES DURANTE LA MIOGENESIS EMBRIONARIA EN EXTREMIDADES DE RATON (Differential proteoglycan expression during early myogenesis in mouse limbs). Olguin, H. U. Neurobiología Molecular, Depto. Biología Celular y Molecular, Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. Patrocinio: Vollrath, V.

Los proteoglicanes (PGS) son macromoléculas críticas para la diferenciación muscular *in vitro*, como organizadores de matriz extracelular (MEC) y moduladores de la actividad de factores de crecimiento, sin embargo su papel en la miogenésis embrionaria es desconocido. En este sentido, los precursores miogénicos que colonizan los primordios de extremidades, no expresan ningún factor regulador de la miogénesis (MRF) hasta alcanzar esta región y se diferencian en presencia de factores de crecimiento que reprimen la miogénesis en *in vitro*.
Hemos comenzado a caracterizar la expresión de PGs en primordios de extremidades de embriones de ratón. Primero, mediante análisis de RT-PCR y northen blots de ARNms de PGs específicos y análisis de western blots detectando PGs asociados a membrana celular y MEC. Segundo, se utilizó un sistema *in vitro* donde explantes de extremidades fueron mantenidos en cultivo por 48 horas, evaluándose la síntesis de PGs mediante la incorporación de (S^{35}) a sus cadenas de glicosaminoglicanes.
Como resultado se observan cambios en la expresión de PGs específicos relacionados temporalmente con el inicio de la miogénesis (medido por la expresión de MRFs), particularmente en el caso del PG Decorina, que concuerda con su patrón de expresión observado *in vitro*.
HO Fondecyt 2990086; E.Brandan C.Presidencial, Fondecyt 1990151.

EXPRESION DIFERENCIAL DE CLC-3 EN EL TRACTO GASTROINTESTINAL DE COBAYO. (ClC-3 differential expression in guinea-pig gastrointestinal tract). Hermoso, M. ICBM, Fac. Medicina, U. Chile. Patrocinio: Dr. F. Sepúlveda.

La distribución diferencial de transportadores en el epitelio intestinal da cuenta de los fenómenos de secreción y absorción. El epitelio de la cripta es secretor y el de la vellosidad tiene una función absortiva. Respecto a la secreción de Cl, esta involucra el influjo de Cl través del cotransportador Na/K/2Cl y el eflujo por un canal específico. Se ha propuesto a CFTR y/u otras conductancias de Cl no identificadas molecularmente, involucradas en la secreción del ión. ClC-3, perteneciente a una familia de canales de Cl (ClC), está ampliamente distribuído en mamíferos y se ha propuesto que participa en la regulación del volumen celular.
El objetivo de este trabajo fue determinar la expresión de ClC3 en el epitelio de intestino y colon de cobayo. Para ello, se realizó hibridación in situ no radiactiva. El contenido de ARNm de ClC3, se evaluó por PCR competitiva, utilizando un standard interno homólogo, que se amplificó con los mismos partidores para ClC3. Los resultados obtenidos indican que el ARNm de ClC-3 se localizó tanto en criptas como en vellosidades de intestino y colon, siendo más abundante en las criptas. Estos datos sugieren que ClC-3 podría participar en los mecanismos que hacen posible la secreción y absorción intestinal. La distribución diferencial del RNAm de ClC3 sugiere que las células de las vellosidades y las criptas tienen mecanismos de transporte similares, a pesar de desempeñar distintas funciones.
FONDECYT 3980043.

BIOQUIMICA VIII

CARACTERIZACION BIOQUIMICA DE LA CISTEINA SINTETASA DE *Bacillus stearothermophilus* V. (Biochemical characterization of cysteine synthase from *Bacillus stearothermophilus* V). M.Araya, C.Saavedra, C.Loyola y C.Vásquez. Laboratorio de Microbiología, Universidad de Santiago.

B. stearothermophilus V es un bacilo Gram positivo resistente a telurito de potasio (K_2TeO_3). Se construyó una genoteca de la bacteria en *Escherichia coli* y se seleccionó clones resistentes a K_2TeO_3, encontrándose que los plasmidios recombinantes contenían un inserto de 7 kb. Este se secuenció identificándose un marco de lectura (ORF308) 85% idéntico a la cisteína sintetasa de *B. subtilis*. Extractos solubles de *E. coli* recombinante estresada con K_2TeO_3 fueron sometidos a PAGE-SDS. Se observó sobreexpresión de una proteína de 32 kDa cuya secuencia NH_2 terminal correspondía exactamente a los 10 primeros aminoácidos predichos por la secuencia deducida del ORF308. Esta se amplificó por PCR y se clonó/expresó en el sistema pET-21d / *E.coli* BL21(DE3). Los clones recombinantes sobreexpresaron cisteína sintetasa y resultaron resistentes a K_2TeO_3. Para entender el rol que podría eventualmente jugar esta proteína en la resistencia al metal, se decidió caracterizarla bioquímica y estructuralmente.
La proteína fué purificada a homogeneidad con un rendimiento de 16%. Es un homodímero de 64 kDa y utiliza piridoxal fosfato como cofactor. Se determinaron parámetros cinéticos para O-acetil-L-serina (Km=167 µM) y Vmáx (12,6 µmoles/min/ml enzima), pH(7.0) y temperatura óptima(45°C) y se estudió la resistencia de la enzima a agentes desnaturantes. La enzima retuvo 50% de su actividad en presencia de 0,01% p/v SDS, 1 M urea o 60 mM GuHCl.
Fondecyt1990917 y Dicyt(USACH).

ESTUDIO EXPERIMENTAL Y MODELAMIENTO MOLECULAR DE LA INTERACCIÓN DE ANALOGOS DE ATP CON LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRÚVICA DE LEVADURA.(Experimental and molecular modeling study of the interaction between ATP analogs and yeast phosphoenolpyruvate carboxykinase). González, D., Vega R. y Cardemil, E., Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología, Casilla 40, correo 33, Santiago Chile.

El objetivo de este trabajo es obtener información acerca de la estructura y sitio activo de la carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) de *Saccharomyces cerevisiae*. Se estudió por modelamiento molecular la marcación química de la enzima con dos derivados del piridoxal 5'-fosfato (PLP), análogos del ATP: PLP-AMP y PLP-ADP. Estos análogos están dirigidos a residuos de lisina, y permiten ser utilizados como sondas fluorescentes. El modelamiento de la PEPCK de *S. cerevisiae* fue hecho por homology modeling, usando como estructura de referencia los datos cristalográficos de la PEPCK de *Escherichia coli* (Tari,L.W., y col., *Nat. Struc. Biol.* 3, 355-363, 1996). La estructura obtenida para este modelo fue relajado (Discover980) y posteriormente, se estabilizó el complejo con el análogo. Se analizaron las barreras rotacionales del grupo reactivo, explorando, así, su supercie conformacional. Como resultado de estos cálculos, se obtuvo que el PLP-ADP sólo podría reaccionar con la lisina 290 y que el PLP-AMP, podría hacerlo con la lisina 290 o con la 254. En nuestro laboratorio se comprobó experimentalmente que el PLP-ADP reacciona específicamente con la lisina 290, y el PLP-AMP lo hace con la lisina 290 y otra no identificada.
Agradecimientos: Proyecto FONDECYT #1970670 y DICYT-USACH 029941CU.

ESTUDIOS COMPARATIVOS DE EMISION DE FLUORESCENCIA DE DOS ISOAPIRASAS DE *S.tuberosum*. (Comparative studies of fluorescence emission of two isoapyrases from *S.tuberosum*).

Espinosa V[1]., Kettlun A.M[1]., Zanocco A[2]. y Valenzuela M.A[1]. [1]Depto de Bioquímica y Biología Molecular. [2]Depto. Química Orgánica y Fisicoquímica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Universidad de Chile.

La ATP-difosfohidrolasa de *S.tuberosum* hidroliza nucleósidos di y tri fosforilados en presencia de catión bivalente con diferentes cuocientes de actividades ATPásicos/ADPásicos según la variedad clonal de donde provenga la enzima. Se han estudiado las isoapirasas Desirée de cuociente de actividades=1 y Pimpernel de cuociente 10 en las cuales estudios de modificación química selectiva sugirieron la presencia de W en el sitio de unión de nucleótido. Se han realizado estudios de emisión de fluorescencia con ambas isoapirasas para examinar las diferencias en el sitio de unión de nucleótido que determinan los diferentes cuocientes de actividades hidrolíticas.
Existen diferencias entre los espectros de emisión de fluorescencia intrínseca de ambas apirasas (λexc: 286nm, λemis máx Desirée: 337nm; λemis máx Pimpernel: 340nm). La unión de análogos no hidrolizables de sustrato (ATP y ADP fosfonato) y de análogos fluorescentes de sustrato (MANT-, TNP- y Eteno-derivados) generan, en ambas proteínas, el apagamiento de su emisión de fluorescencia y los Kd determinados por titulación, para los análogos presentan diferencias entre ambas enzimas.
Se realizaron estudios de apagamiento con I^-, Cs^{+4} y acrilamida determinandose las Ksv de las enzimas nativas y denaturadas con hidrocloruro de guanidinio, y en las enzimas nativas la fracción de residuos expuestos.
Fondecyt: 2970041.

ESTUDIOS DE DESNATURACION DE MUTANTES DE FRUCTOSA-1,6-BISFOSFATASA QUE CONTIENEN RESIDUOS TRIPTOFANO. (Unfolding studies of fructose 1,6-bisphosphatase mutants containing tryptophan residues).

Ludwig, H., Yañez, A.J., Pinto, R., Cárcamo, J.G., Reyes, A.R. & Slebe, J.C. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

La fructosa-1,6-bisfosfatasa es un homotetrámero en el cual cada subunidad contacta a las vecinas a través de la interfase C1-C2, adyacente al sitio activo, y la interfase C1-C4, cercana al sitio de unión del inhibidor alostérico AMP. Para detectar cambios en la interfase C1-C4 hemos generado dos mutantes de la enzima: F6W y F89W. En el presente trabajo usamos estas mutantes para estudiar la desnaturación de la enzima por hidrocloruro de guanidina (GdnCl).
La desnaturación se estudió por determinaciones de actividad catalítica, de fluorescencia del triptófano y de unión de ANS. Para ambas mutantes hemos encontrado que la pérdida de la actividad catalítica, que ocurre entre 0,4 y 1 M de GdnCl, coincide con un aumento fuerte de la unión de ANS , indicando la aparición de un intermediario hidrofóbico. Además, se encontró que en esta etapa de desnaturación el triptófano de la mutante F89W pasa de un ambiente relativamente polar a un ambiente apolar disminuyendo su grado de exposición. Ambas mutantes presentan un fuerte aumento de la polaridad del entorno de su triptófano y un aumento de su grado de exposición, en una transición centrada en 2,0 M GdnCl, que correspondería a la última etapa de desplegamiento de la proteína. Los resultados se comparan con los datos de la enzima renal no mutada. (Fondecyt 1981001; DID-UACH 199901).

UN MECANISMO CATALITICO PARA LA AGMATINASA (A catalytic mechanism for agmatinase)

López, V., Cerpa, J. Herrera, P., Uribe, E., Alcota, J., Baeza, R., Fuentes, E., Fuentes, M. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Considerando la analogías entre los sustratos (agmatina y arginina), la reacción catalizada (hidrólisis con producción de urea) y sus secuencias amino acídicas, la agmatinasa es incluida en la *familia de las arginasas*. Para apoyar esto, hemos recurrido a estudios cinéticos, modificaciones químicas, mutagénesis sitio-dirigida y modelaje molecular de ambas enzimas.
Empleando especies solubles e inmovilizadas, observamos que la agmatinasa de *E. coli* requiere de Mn^{2+} para su actividad catalítica, que especies activas que contienen 1 Mn^{2+}/subunidad son hiperactivadas por Mn^{2+} y que los monómeros aislados son activos. Proponemos que: (a) la actividad de un Mn^{2+} *catalítico*, es *modulada* por un unión de otro Mn^{2+}, con formación de un centro binuclear; (b) la activación de una molécula de agua unida al metal catalítico, facilitada por Asp-153 actuando como una base, genera el hidroxilo que ataca nucleofílicamente al carbono guanidínico del sustrato. Los estudios cinéticos (valores de K_m y K_i) indican que el metal no participa directamente en la unión del sustrato a la enzima. Los resultados obtenidos con especies inmovilizadas, y los análisis electroforéticos y cromatográficos de la enzima soluble, apoyan una estructura tetramérica para agmatinasa. Corroborando las predicciones, observamos una estrecha analogía entre agmatinasa y arginasa, lo que motiva nuestros actuales estudios sobre las bases moleculares de sus diferencias en especificidad de sustrato.
P:I 98.031.076-1.0

MODIFICACION A LAS GLOBINAS PROMOVIDA POR DIFERENTES FUENTES DE RADICALES LIBRES. ROL DEL GRUPO HEMO. (Globin modification promoted by different radical sources. Role of heme group).

G.Celedón, M.Fuentes y E.A.Lissi. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso y Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Oxihemoglobina (Hb) y su apoproteína (Gl) fueron incubadas en presencia de cisteína, 2,2´-azobis(2-amidinopropane) (AAPH) y ácido 4,4´-azobis(4-cianovalérico) (ACV). Se determinó la agregación de las proteínas mediante electroforesis PAGE-SDS, la formación de grupos carbonilos por inmunoelectroforesis y la destrucción de grupos triptofano sólo en Gl, mediante espectrofluorimetría. A similares concentraciones del azo-compuesto, AAPH produce, en la globina, más carbonilos, destruye más triptofanos y produce más agregación que ACV. Sin embargo, en términos de dosis de radicales, los primeros dos efectos son siginificativamente mayores cuando se emplea ACV. Cuando se emplea cisteína, no se modifican los triptofanos y ocurre una moderada formación de carbonilos.
La presencia del grupo hemo aumenta notablemente la producción de carbonilos en los tres sistemas. En particular, el aumento con los azo-compuestos podría indicar que el daño está asociado a especies reactivas del oxígeno generadas en la oxidación del grupo hemo por los radicales peroxidados. En el caso de la cisteína, el aumento de carbonilos puede asociarse a una mayor velocidad de producción de radicales derivados de la cisteína, resultantes de su interacción con el grupo hemo. Sólo AAPH produce un notable aumento de la agregación de la hemoglobina.
Estos resultados muestran que la relación entre las distintas modificaciones radicalarias es extremadamente dependiente del tipo de radical y de la presencia del hem.
Financiado por FONDECYT Proyecto 197-0691

ANALISIS DE NUCLEOTIDOS Y SUS METABOLITOS POR ELECTROFORESIS CAPILAR. (Analysis of nucleotides's metabolites and nucleotides by capillary electrophoresis).

García,L.[1], Acuña,G.[1], Acevedo,C.[2], Bravo,I.[2] y Valenzuela M.A.[1]. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile[1]. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.[2]

La técnica de Electroforesis Capilar (EC) se ha usado como técnica alternativa a la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) para la determinación de muestras biológicas por su ventaja de simplicidad, alta resolución y tiempos cortos de análisis.
En nuestro laboratorio esta técnica se ha aplicado en la determinación de ATP, ADP y AMP en perfusados de placenta humana con el propósito de detectar las actividades enzimáticas ecto-ATP-difosfohidrolasa y ecto-5'-nucleotidasa; y la determinación de IMP, inosina e hipoxantina en muestras de salmón y trucha con la finalidad de hacer un seguimiento de su frescura por determinación de su valor K.
Los nucleotidos ATP, ADP y AMP son compuestos aniónicos de distinta carga, los que fueron separados en un capilar de 75 µm de diámetro interno en tampón fosfato a pH 7,5 con un tiempo de análisis de no mas de 30 min; en cambio el IMP y sus productos de metabolización se separaron en un tampón HEPES-Tris a un pH mas alcalino (pH 10) con un tiempo de análisis no superior a los 25 min.
Así, utilizando un capilar no cubierto se logró optimizar la separación de estos compuestos, variando el pH y la solución tampón en cada caso.

CLASIFICACION DE LAS ENDOXILANASAS DE LA FAMILIA 11 (o G) BASADA EN ANALISIS DE SECUENCIAS AMINOACIDICAS. (Classification of family 11 (or G) endoxylanases based on primary structure).

De Ioannes, P.*, Sapag, A.**, Lambert, C.***, Depiereux, E.***, Wouters, J.*** y Eyzaguirre, J.* *Universidad Católica, **Universidad de Chile, ***URBM, FUNDP, Namur, Bélgica.

Las endoxilanasas (1,4-ß xilano hidrolasas, E.C. 3.2.1.8) hidrolizan los enlaces glicosídicos internos de las cadenas de xilano, componente principal de las hemicelulosas de la pared celular vegetal. Se ha determinado la secuencia aminoacídica de numerosas endoxilanasas, principalmente de hongos y bacterias. Estas enzimashan sido agrupadas en dos familias, denominadas Fy G (familias 10 y 11 de la clasificación de las glicosil hidrolasas), en base a similitudes de secuencia. Las endoxilanasas de la familia 11 presentan un peso molecular cercano a 20 000, y su estructura tridimensional muestra un dominio con dos hojas beta. Las endoxilanasas tienen importantes aplicaciones biotecnológicas (p. ej. bioblanqueamiento de celulosa), por lo que es de interés conocer su mecanismo de acción y estabilidad. Utilizando los programas de alineamiento de secuencias MATCHBOX y CLUSTALX se han analizado 79 secuencias de la familia G (42 de hongos, 34 de bacterias, 2 de protozoos y 1 de insectos). Esto ha permitido una clasificación más fina de estas enzimas, determinar con mayor precisión las zonas de secuencia altamente conservadas, y por lo tanto esenciales para su función, y también proponer un dendrograma con relaciones filogenéticas entre las proteínas estudiadas.
FINANCIAMIENTO: DIPUC y FONDECYT (Proyectos 1960241 y 1990147).

NEUROBIOLOGIA I

VARIACION EN LOS NIVELES DE BCL-XL Y BAX EN HIPOCAMPO DE RATA INDUCIDA POR ADRENALECTOMIA. (Adrenalectomy regulates Bcl-x_L and Bax protein levels in rat hippocampus. Greiner, M. Parra, C. Cárdenas, S. Paredes, A. Lara, HE. Fiedler, JL. Laboratorio de Neurobioquímica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Los esteroides adrenales ejercen diferentes efectos sobre la estructura, función y viabilidad neuronal en el hipocampo. La reducción en los niveles de corticosterona inducida por adrenalectomía, promueve la apoptosis de las neuronas granulares del giro dentado sin una aparente destrucción de otras regiones del hipocampo, lo que sugiere una influencia trófica de los esteroides adrenales en la sobrevida de las neuronas granulares. Hemos evaluado los cambios en la expresión de mRNA y proteínas que protegen (Bcl-x_L) o inducen (Bax) apoptosis en respuesta a la adrenalectomía, usando las técnicas de RT-PCR e inmunowestern blot.
Después de 5 días de adrenalectomía observamos una reducción en los niveles de mRNAs de bax y de Bax, efectos revertidos por reposición con bajos niveles de corticosterona. La adrenalectomía no indujo cambios en los mRNAs de bcl-x_L, sin embargo, disminuyen los niveles de la proteína Bcl-x_L. Este efecto no fue prevenido por la administración corticosterona, sugiriendo que los niveles de Bcl-x_L podrían ser independientes de ésta hormona. Nuestros resultados sugieren que los esteroides adrenales ejercen sus efectos en parte, a través de la regulación de las proteínas involucradas en los procesos apoptóticos.

OBTENCION DE UN MARCADOR ESPECIFICO PARA LOS TANICITOS DEL HIPOTALAMO QUE PERMITE DETECTAR CAMBIOS FUNCIONALES DE LOS MISMOS (Development of an antibody specific for the hypothalamic tanycytes that allows to detect functional changes of these cells). Rodríguez, E.M., Blazquez, J.L., Guerra. M., Peruzzo, B., Pastor, F., Amat, P. Instituto de Histología y Patología, Universidad Austral de Chile, Valdivia - Departamento de Anatomía Humana, Universidad de Salamanca, España.

Los tanicitos hipotalámicos son células ependimarias que establecen un puente entre el líquido cefalorraquídeo y la sangre portal. Un subgrupo de ellos, los tanicitos ß 1 establecen una barrera entre los axones transportadores de la hormona liberadora de gonadotrofinas (Gn-RH) y los capilares portales. Nuestra hipótesis es que estos tanicitos participan en el mecanismo de liberación de Gn-RH desde la terminación nerviosa a los capilares portales. Dada la ausencia de un marcador específico de tanicitos, nos propusimos lograrlo mediante la siguiente estrategia. La EM de vaca obtenida fresca se fragmentó en explantes que se cultivaron por un mes. Al finalizar el cultivo los explantes tenían un forma esférica y estaban constituidos fundamentalmente por tanicitos, pues las terminaciones nerviosas degeneraron. Los explantes vivos fueron xenotransplantados en varias ratas. Una de ellas produjo un anticuerpo que usado en inmunocitoquímica tiñe selectivamente el citoplasma de los tanicitos. En Western blot de EM, el anticuerpo revela un compuesto de aproximadamente 160 kDa. La inmunoreactividad de los tanicitos de ratas sacrificadas en diestro es escasa o ausente, mientras que en estro y en ratas castradas por un mes dicha reactividad aumenta significativamente, lo cual sugiere que el compuesto de 160 kDa sintetizado por los tanicitos corresponde a una sustancia relacionada con el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal.
Proyecto FONDECYT 197-0627

EFECTO DE LA ACIDIFICACION SOBRE LA DESCARGA DE LAS NEURONAS DEL GANGLIO PETROSO. Effect of acidification on the discharge of petrosal ganglion neurons. Alcayaga, J., Reyes, E.P., Arroyo, J. Laboratorio de Neurobiología, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Las neuronas del ganglio petroso que proyectan por el nervio carotídeo (NC) son activadas por la aplicación de bloqueadores de la cadena respiratoria (NaCN, NaN_3), pero no por la hipoxia. Sin embargo, la duración de las respuestas evocadas por NaCN supera hasta en 25 veces a las evocadas por NaN_3. Ya que el cianuro posee otros efectos intracelulares, se estudió el efecto de la acidificación como probable mediador de la respuesta evocada por NaCN.
Los ganglios petrosos y sus tractos periféricos, se extrajeron de gatos adultos anestesiados, para superfundirlos con 1,5 ml/min de solución Hanks-5mM HEPES a 38±0,5 °C y pH 7,43. Se registró la frecuencia de potenciales de acción en el NC (f_{NC}), y su modificación por aplicación ganglionar de 2,4-dinitrofenol (DNP), ácido clorhídrico (HCl), ácido láctico y cloruro de amonio (NH_4Cl). La acidificación del medio (HCl), aún en dosis máximas, no modificó la f_{NC}. DNP no afectó la f_{NC}, pero aplicaciones repetidas deterioraron la preparación. Tanto el ácido láctico como el NH_4Cl, que reducen el pH intracelular, produjeron aumentos dosis-dependiente y de larga duración de la f_{NC}.
Nuestros resultados indican que la acidificación del medio intracelular, pero no la del medio externo, aumenta la f_{NC}, sugiriendo que la respuesta evocada por NaCN puede ser mediada -a lo menos en parte- por la acidificación intracelular.
Financiamiento FONDECYT 199-0030

MODULACION INHIBITORIA DE LA RESPUESTA QUIMIOSENSORIAL CAROTIDEA A LA HIPOXIA POR OXIDO NITRICO. (Inhibitory modulation of carotid chemosensory response to hypoxia by nitric oxide). Mosqueira, M., Villanueva, S., Iturriaga, R.,. Laboratorio Neurobiología, Facultad de Ciencias Biologicas, P. Universidad Católica de Chile.

Como el nitroprusiato de sodio, la nitroglicerina y L-arginina disminuyen los aumentos de la frecuencia de descarga quimiosensorial carotídea (f_x) producidos por hipoxia, se ha propuesto que el óxido nítrico (NO) sería un modulador inhibitorio de la quimiorrecepción hipóxica en el cuerpo carotídeo. Pero no existen evidencias directas de la acción del gas NO sobre la quimiorecepción hipóxica que confirmen esta proposición.
Perfundimos cuerpos carotídeos *in vitro*, obtenidos de gatos anestesiados, con solución Tyrode (pH 7.40, 38.0°C, PO_2 ~125 Torr). Registramos f_x desde el nervio carotídeo y estudiamos los efectos de inyecciones (1-2 ml) y perfusión por 2 min con Tyrode hipóxico (PO_2 ~30 Torr) equilibrado con NO (25 ppm en N_2).
Durante la estimulación hipóxica, las inyecciones de Tyrode hipóxico equilibrado con NO disminuyeron transitoriamente los aumentos de f_x desde 282 ± 45 a 95 ± 33 Hz ($p < 0.05$. n=5). La perfusión con Tyrode hipóxico equilibrado con NO disminuyó la pendiente de la respuesta hipóxica de 12 ± 2.3 a 4.0 ± 1.4 Hz/s ($p < 0.05$) y su amplitud máxima de 297 ± 40 a 228 ± 62 Hz ($p < 0.05$, n=5).
Estos resultados constituyen la primera demostración directa que el gas NO es un inhibidor de la respuesta quimiosensorial carotídea a la hipoxia.
Financiado por FONDECYT 198-0965

TOXICIDAD DE AMINOCROMO EN NEURONAS DE LA SUBSTANCIA NIGRA DE RATA ADULTA (Aminochrome toxicity in neurons of adult rat substantia nigra).

Dagnino-Subiabre, A[1].; Arriagada, C[2].; Caviedes, P[2].; Armero, J.M[2].; y Segura-Aguilar, J[1]. [1]Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina y [2]Programa de Morfología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Hemos postulado que la reducción con un electrón de aminocromo a una *o*-semiquinona radical es la reacción donde se producen las especies reactivas que inducen el proceso neurodegenerativo de los sistemas dopaminérgicos en la enfermedad del Parkinson. También, hemos postulado que la reducción con dos electrones de aminocromo a leukoaminocromo, catalizada por DT-diaforasa, es una reacción neuroprotectiva. DT-diaforasa compite con flavo enzimas que pueden reducir con un electrón aminocromo a leukoaminocromo *o*-semiquinona radical. El objetivo de este trabajo es probar la valides de nuestra hipótesis basada en evidencias obtenidas en experimentos *in vitro* con enzimas purificadas. El efecto del aminocromo sobre las células neuronales de la substancia nigra de rata adulta ha sido estudiado. En concentraciones de 150 μM de dopamina se observó una toxicidad de un 6 % en incubaciones de 2 h. La incubación con aminocromo (150 μM) resultó en una toxicidad de un 8 % bajo las mismas condiciones. Sin embargo, incubación de las células con aminocromo y dicumarol , un inhibidor específico de la enzima DT-diaforasa, resultó en un dramático aumento de la toxicidad (57 %). Estos resultados sugieren que DT-diaforasa juega un papel neuroprotectivo al reducir aminocromo con dos-electrones a leukoaminocromo.
Patrocinadores: Proyecto FONDECYT 1990622 y el DID de Universidad de Chile.

FORMAS MOLECULARES DE ACETILCOLINESTERASA EN CULTIVO PRIMARIO DE HIPOCAMPO DE RATA (Molecular forms of acetylcholinesterase in primary cultures of rat hippocampus).

Morgan, C.(*) y Fernández, H.L.(**). Unidad de Neurobiología Molecular. Fac. Cs. Biol. P. U. C.(*). Neuroscience Laboratory. Bay Pines V. A. Medical Center(**).

La declinación del impulso colinérgico en el hipocampo se correlaciona con la muerte neuronal y el deterioro de la memoria de corto plazo, como se observa en pacientes de Alzheimer y síndrome de Down. La acetilcolinesterasa (AChE) termina el efecto del impulso colinérgico y es un agente citotóxico putativo. Para estudiar el papel de la AChE en la neurodegeneración *in vitro*, hemos estudiado el contenido y la secreción de sus formas moleculares en cultivos primarios de neuronas de hipocampo de rata, a distintas edades de cultivo (6, 9, 13 y 16 dias). La viabilidad de los cultivos es de un 85 - 90 % hasta el dia 9 y puede caer hasta un 70 % al dia 16. Las células contienen las formas G1, G2 y G4 pero secretan exclusivamente la forma G4. La principal forma celular incluye G1 y G2 pero a medida que el cultivo envejece, se observa que la razón de las actividades (G1+G2)/G4 tiende a disminuir en las células, de manera similar a lo observado bajo condiciones neurodegenerativas *in vivo*. Todas estas formas moleculares aumentan con la edad del cultivo pero el eflujo de la actividad total tiende a disminuir con la edad.
P. Fondecyt #2970070 (C.M.) y VA Merit Grant (H.L.F.).

SOBRE-EXPRESION DE GLUT1 EN EPENDIMO NORMAL DE RATON DURANTE EL DESARROLLO POSTNATAL. ANALISIS INMUNOCITOQUIMICO Y POR RT-PCR *in vitro*. (Glut1 over-expression in normal ependymal cells during post-natal development).

Carrasco, M., Vásquez, O. Laboratorio de Neurobiología Celular y Tumoral. Dpto. Histología y Embriología. Universidad de Concepción. (Patrocinio: C. Gocet).

Las células ependimarias revisten las cavidades ventriculares y el canal central de la médula espinal. Se conoce muy poco de la actividad metabólica de estas células en estadios post-natales tempranos. La caracterización funcional de las células es cada vez más importante considerando que ellas han sido involucradas en neurogénesis post-natal, siendo la célula ependimaria una de las posibles "stem cell" del SNC. Otros estudios señalan un aumento significativo de GLUT1 en neuronas y células gliales en estadios post-natales. En este trabajo se utilizó RT-PCR para evaluar el aumento en la expresión de GLUT1 en estadíos post-natales, aislando RNA total de cerebro de ratón. En los primeros 10 días de desarrollo post-natal se observó un aumento significativo en la expresión de GLUT1 sólo en el día 1. Sin embargo, cuando se analizaron inmunohistoquímicamente cortes sagitales y frontales de cerebro de ratón se observó un sorprendente aumento en la expresión de GLUT1 en las células ependimarias del tercer y cuarto ventrículo y acueducto cerebral. No se detectaron cambios evidentes en neuronas, astrocitos o células ependimarias de los ventrículos laterales. Los resultados demuestran que existe una población particular de células ependimarias que se activan metabólicamente en estadíos post-natales y su patrón de activación responde a un fenómeno espacio-temporal.
Financiado por proyecto FONDECYT 1980130.

GLICINA MODULA EL CRECIMIENTO DE NEURONAS ESPINALES DE RATON DURANTE EL DESARROLLO *IN VITRO* (Glycine modulates the neuronal growth in mouse spinal neurons during early neural development in vitro)

Tapia, J.C., Nualart, F., Navarrete, R. Mentis, G., Aguayo, L.G. Dptos. de Fisiología y Histología, Universidad de Concepcion, Chile. Div. Neuroscience, Imp. Coll. Med. Londres, U.K. (Patrocinio: Dr. Jorge Roa).

Se cree que la actividad sináptica excitatoria es crítica para el desarrollo y plasticidad neural. Sin embargo, estudios realizados en neuronas en desarrollo han mostrado la presencia de receptores inhibitorios, R-glicina y $GABA_A$, en los primeros estadios de la sinaptogénesis, sugiriendo que neurotransmisores inhibitorios podrían influir en el desarrollo neuronal. GABA en neuronas hipocampales, por ejemplo, a través de Ca^{+2}_i, modula el crecimiento y formación de neurítas y sinapsis. En este trabajo, estudiamos el rol modulatorio de glicina sobre neuronas espinales de ratón en cultivo durante el desarrollo temprano.
Utilizando registros electrofisiológicos encontramos que durante los primeros días del desarrollo *in vitro* (3-7 DIV), la actividad sináptica espontánea es principalmente de origen glicinérgico (80%). Esto sugiere que la neurotransmisión glicinérgica puede ser importante para procesos de desarrollo neuronal como sobrevivencia y maduración celular. Además, en estas neuronas, usando el anticuerpo policlonal contra neurofilamento (P220), glicina aumentó el número de neuritas primarias (38±2%, 3 experimentos, $p<0.05$). Este efecto trófico de glicina no fue inhibido por estricnina (1 μM), el cual incrementó el numero de neuritas primarias (30±4%, n=250 neuronas, Anova $p<0.05$). Estudios morfométricos, además, mostraron que glicina induce cambios en el tamaño celular incrementando tanto el perímetro como el área somática además del diámetro celular (63±4%, n=50, 3 experimentos). Sin embargo, no encontramos un aumento en la extensión de los procesos neuríticos. En resumen, estos datos sugieren que la transmisión glicinérgica puede jugar un rol trófico en neuronas espinales en cultivo durante etapas tempranas del desarrollo. Financia Fondecyt 1980106 y Fondecyt 2990063, British Council.

PANELES

PANELES I

BIOLOGIA CELULAR

P-1 **ROL DE UROQUINASA Y SU RECEPTOR EN LA INVASION TUMORAL DE CELULAS MAMARIAS EN TEJIDO OSEO** (Role of urokinase and its receptor on breast tumoral invasion into bone) Hurtado C., Santibáñez J.F. y Martinez J. Laboratorio de Biologia Celular, INTA, U de Chile

El activador del Plasminógeno similar a uroquinasa (u-PA) es una serin proteasa a la que se le ha reconocido un papel fundamental en los mecanismos celulares de invasión tumoral. Se ha descrito que la actividad específica de esta enzima aumenta significativamente cuando se une a un receptor de membrana (u-PAR) presente tanto en la célula tumoral como en la de estroma. Este receptor tiene la propiedad adicional de unirse especificamente a Vitronectina (Vn).
En nuestro laboratorio hemos descrito que el cultivo de la línea celular MCF-7 sobre una matriz extracelular (MEC) de origen óseo aumenta significativamente su malignidad y movilidad. En el presente trabajo demostramos que u-PAR de células MCF-7 presenta una gran avidez por la MEC ósea lo que puede traer como consecuencia un incremento significativo del potencial proteolítico insoluble. Parte de esta afinidad de las células mamarias por la MEC ósea se debe al efecto estimulador de u-PA sobre la adhesión mediada por u-PAR tanto a Vn como a MEC. Se presentan también resultados que muestran que la expresión de u-PAR puede ser modulada por su proplo ligando (u-PA) y que este estímulo se manifiesta en mayor medida en la fracción de u-PAR retenida en la MEC.
Financiamiento: Fondecyt 8970028

P-2 **MECANISMOS INTRACELULARES ASOCIADOS A LA PROLIFERACION OSTEOBLASTICA ESTIMULADA POR UROQUINASA** (Intracellular mechanisms involved in the urokinase-mediated osteoblastic proliferation). Juretic N, Santibáñez J.F and Martinez J. Laboratorio de Biologia Celular, INTA, U. de Chile

Resultados previos de nuestro laboratorio han indicado que factores solubles producidos por la línea celular prostática PC-3 provocan un aumento en la proliferación de osteoblastos de rata. Se ha atribuido este efecto estimulador a la alta concentración de uroquinasa (u-PA) producida por esta línea celular.
Dado que en células de origen óseo IGF-I representa el factor de mayor relevancia en la proliferación, quisimos estudiar en forma comparativa -ahora en células de origen humano- los mecanismos intracelulares involucrados en la proliferación de osteoblastos estimulada por IGF-I (proliferación normal) y u-PA (proliferación patológica).
De los resultados de las curvas de crecimiento se deduce que IGF-I estimula la proliferación celular a concentraciones menores que u-PA. Nuestros resultados también sugieren que los dos factores utilizan una misma via intracelular de señalización ya que ambos activan la ruta de MAP quinasas via fosforilación de ERK 1 y 2. En concordancia con estos resultados, tanto la fosforilación de ERK como el estimulo a la proliferación celular resultaron bloqueados por el inhibidor de MEK PD098059.
Se discuten estos resultados de cara a la identificación de los factores de origen prostático involucrados primariamente en el fenómeno proliferativo óseo.
Financiamiento: Fondecyt 8970028

P-3 **INYECCION BILATERAL DE ACETILCOLINESTERASA EN HIPOCAMPO DE RATA PRODUCE DAÑO NEURONAL Y DETERIORO EN MEMORIA ESPACIAL.** (BilateraL injection of acetylcholinesterase in rat hippocampus induces neuronal loss and impairment in spatial memory) Chacón M.A., Reyes A.E., e Inestrosa N.C. Departamento de Biologia Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Catalica de Chile.

La caracteristica más relevante de la enfermedad de Alzheimer (EA) es la disminución en las capacidades cognitivas de estos pacientes. A nivel neuropatológico las lesiones de la EA, placas seniles (PSs) y ovillos neurofibrilares, se concentran en regiones del cerebro donde operan circuitos colinérgicos. En las PSs se acumula la enzima acotilcolinesterasa (AChE), la cual hidroliza la acetilcolina.
Trabajos previos de nuestro laboratorio han mostrado que la AChE promueve la formación de fibras amiloides siendo además tóxica cuando se agrega a cultivos celulares. Para estudiar el efecto neurotóxico de la AChE *in vivo*, inyectamos bilateralmente la enzima en hipocampo dorsal de rata. Luego los animales fueron entrenados utilizando el paradigma de aprendizaje espacial Morris *water maze* y los cambios morfológicos del hipocampo fueron analizados por tinción de Nissl y métodos inmunohistoquímicos utilizando anticuerpos anti-proteína fibrilar acídica de glia, anti-laminina, y anti-AChE. Se observó que la inyeccion de AChE produce pérdida neuronal, esto se ve reflejado en una disminución significativa en adquisición de memoria espacial.
Estos resultados sugieren que la AChE podría tener un papel en la patogenia de la EA.
Financiamiento. FONDECYT N° 2970074 a A.E.R., Cátedra Presidencial en Ciencias (1999-2001) y FONDECYT N° 1971240 a N.C.I.

P-4 **EL PÉPTIDO β–AMILOIDE MUTANTE FLEMISH ($A\beta_{Ala21\rightarrow Gly}$) AGREGA EN PRESENCIA DE COBRE** (Flemish mutant amyloid-β peptide aggregates in the presence of copper) Vázquez, M.C. y Opazo, C. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: C. Morgan).

Al menos tres loci genéticos están asociados con la enfermedad de Alzheimer (EA). Uno de ellos se encuentra localizado en el cromosoma 21 y codifica para la proteína Precursora del Amiloide (APP). Una mutación dentro de la secuencia del APP ($APP_{Ala692\rightarrow Gly}$), denominada Flemish, aumenta la producción del péptido Aβ, causando EA con angiopatía amiloide congofílica (AAC). El péptido Aβ Flemish agrega débilmente *in vitro*, sin embargo se encuentra depositado en el cerebro de pacientes con AAC. Recientemente se ha encontrado que las placas se pueden solubilizar en presencia de quelantes de metales, los cuales se encuentran acumulados en los depósitos de amiloide. Estos antecedentes sugieren la posibilidad de que metales como el cobre estimulen la agregación de péptidos menos amiloidogénicos como el Flemish. La agregación fue evaluada por turbidometría a 400 nm, mostrando un aumento significativo en la agregación del péptido en presencia de cobre. Estos agregados, sometidos a tinción con Rojo Congo muestran birrefringencia positiva y presencia de cruces de malta al microscopio de luz polarizada, indicando su naturaleza amiloide. Dichos agregados formados en presencia de cobre son, además, resistentes a la acción de proteasas como la tripsina.
Financiado por FONDECYT 2990087 a C.O.,CIMM-ICA/006 y Cátedra Presidencial en Ciencias al Dr. Nibaldo C. Inestrosa.

P-5 SINTESIS DE PROTEINAS EN *Echinococcus granulosus*. POTENCIALES MARCADORES DE DESARROLLO Y FERTILIDAD EN QUISTES HIDATIDICOS. (Protein synthesis in *E. granulosus*. Possible markers of development and fertility in hydatidic cysts). Paredes, R.; Galindo, M. y Galanti, N. Programa de Biología Celular y Molecular, I.C.B.M. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La hidatidosis es una de las zoonosis más importantes, causadas por el céstodo E. *granulosus*; genera dos tipos de quistes hidatídicos: fértiles e infértiles. El objetivo de esta investigación es estudiar la síntesis de proteínas de *E. granulosus* e identificar proteínas marcadoras de desarrollo y fertilidad en quistes hidatídicos.
Se tomaron las siguientes muestras a partir de bovinos y ovinos: capa germinal y protoescólice de quistes fértiles y capa germinal de quistes infértiles. El patrón de proteínas totales de cada una de las muestras se determinó por SDS-PAGE Se estudió la síntesis de estas proteínas mediante marcación metabólica con precursor radioactivo. Para esto cada una de las muestras se incubó a 38,5° C con 5% de CO2 , en presencia de 100 µCi de Metionina S-35. Posteriormente éstas fueron separadas por SDS-PAGE y tratadas para exposición fluorográfica.
La incorporación del precursor en proteínas fue mayor en protoescólices y menor en capa germinal de quiste fértil; la capa germinal de quiste infértil mostró una incorporación intermedia. Al comparar los patrones electroforéticos de proteínas y las fluorografías de cada muestra, se observa que algunas de ellas son diferencialmente sintetizadas y están localizadas entre 20 y 50 KDa.
Se concluye que existen proteínas marcadoras de desarrollo y fertilidad que podrían ser utilizadas como antígenos para la identificación serológica de quistes fértiles e infértiles, con relevancia para el diagnóstico y tratamiento de esta parasitosis.
Financiado por Proyecto FONDECYT N° 1970766 y SIDA/ SAREC

P-6 CARACTERIZACION DE LA HIDROCEFALIA CONGENITA EN MUTANTE HYH Y ANALISIS DE LOS CAMBIOS EN EL ORGANO SUBCOMISURAL (OSC). Characterization of the hydrocephalus developed by the mutant mouse hyh, and an analysis of the changes in the subcommissural organ. Sara Rodríguez, Karin Vío, Carolina Wagner. Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia. Proyecto FONDECYT 197-0627.

Hay evidencias que el órgano subcomisural (OSC) está involucrado en la patogenia de la hidrocefalia congénita. En el presente trabajo el OSC fue investigado en el ratón mutante hyh que desarrolla hidrocefalia congénita. El cerebro de ratones normales e hidrocefálicos de 15 a 50 días de edad, fue investigado usando anticuerpos (AFRU) contra las glicoproteínas secretorias del OSC. Todos los animales hidrocefálicos presentaron: i) dilatación del tercer ventrículo y de los laterales, la cual era progresiva a partir de PN-1. Las paredes de los ventrículos presentaron en regiones muy definidas denudamiento ependimario. ii) el acueducto de Silvio presentó estenosis en su extremo cefálico y atresia total en su extremo distal, sellando completamente la comunicación con el IV ventrículo. La región intermedia del AS presentó una gran dilatación que comprimía el cerebelo. iii) a pesar que el IV ventrículo presentó un volumen normal, todo el espacio subaracnoídeo y especialmente en las cisternas supraópticas presentaron una notable dilatación , que resultó en una alteración del hipotálamo y del quiasma óptico. iv) el OSC de los ratones hyh de 50 días de edad presentó células ependimarias muy bajas AFRU+ y una fuente celular adicional de material AFRU+. Todos los ratones hyh no presentaron FR, y carecen de canal central en la médula espinal.Está en marcha el estudio de los fetos mutantes para dilucidar si la alteración del OSC es primaria o secundaria al comienzo de la hidrocefalia

P-7 IDENTIFICACION DE LOS GENES INVOLUCRADOS EN LA MOVILIDAD DESLIZANTE DE *Myxococcus xanthus* UTILIZANDO EL TRANSPOSON EUCARIONTE MARINER. (Identification of the genes involved in gliding motility of *Myxococcus xanthus* using the eukaryotic transposon mariner). Youderian, P. y Hartzell, P.L. Departamento de Microbiología, Biología Molecular y Bioquímica, Universidad de Idaho, EEUU.

Myxococcus xanthus tiene dos sistemas de movilidad deslizante, aventurera (A) y social (S). Cepas con mutaciones únicas en uno u otro sistema retienen movilidad parcial, pero cepas con mutaciones en ambos sistemas no son móviles. Electroporamos las cepas parentales que tienen mutaciones A o S únicas con un plasmidio, pMycoMar, que posee un origen condicional que funciona en *E. coli* pero no en *M. xanthus*. Este plasmidio contiene el transposón magellan-4 y el gen para transposasa del elemento transposable, Himar, en cis. El transposón defectivo magellan-4 tiene un gen que especifica resistencia a Kanamicina. Seleccionamos cepas transformantes que adquirieron resistencia a Kanamicina y perdieron movilidad, y clonamos las inserciones independientes en 120 genes A y 120 genes S. El análisis de las secuencias adyacentes a las inserciones muestra que la mayoría de los genes involucrados en movilidad deslizante están involucrados en la biosíntesis o secreción de polisacáridos, que quizás es la fuerza motriz para movilidad deslizante. Estos resultados demuestran que mariner es un elemento eucarionte poderoso para análisis genético en procariontes.
Este trabajo fue financiado por Proyecto NSF N° MCB-9808848.

P-8 ACIDO HIALURONICO Y CONDROITIN SULFATO EN LA RUTA MIGRATORIA DE LAS CELULAS GERMINALES PRIMORDIALES EN EMBRIONES DE RATON. (Hyaluronic acid and chondroitin sulfate in the migratory pathway of primordial germ cells in mouse embryos). Soto-Suazo, M.(1-2), Abrahamsohn, P.A.(2), Nader, H.B.(3), Sampaio, L.O.(3), Ferro, E.S.(2), Tolosa, J.(1), Pereda, J.(1) & Zorn, T.M.T.(2). (1) Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile, Chile. (2) Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad de São Paulo, Brasil. (3) Escuela Paulista de Medicina, Universidad Federal de São Paulo, Brasil.

Ácido hialurónico (AH) y condroitín sulfato (CS) han sido determinados en la ruta migratoria de células embrionarias, como las células de la cresta neural, células mesenquimáticas de la córnea y disociación de las células del esclerótomo. Se ha observado que las concentraciones de ácido hialurónico y condroitín sulfato varían durante el proceso migratorio. Durante el desplazamiento celular en estos modelos estudiados el ácido hialurónico está en altas concentraciones y el condroitín sulfato en bajas concentraciones y cuando el proceso migratorio ha finalizado, se observa una relación inversa.
El objetivo de este trabajo fue estudiar la distribución de AH y CS en la ruta migratoria de las células germinales primordiales (CGPs) de ratón.
Embriones de ratón de 9, 10, 11 y 12 días de gestación (dg) fueron fijados en methacan o paraformaldehído al 4% en tampón fosfato salino. Los especímenes fueron deshidratados, incluídos en parafina y cortados a 5 micrómetros de grosor. Las CGPs fueron identificadas por el método de la fosfatasa alcalina. Los cortes fueron incubados con una sonda biotinilizada para AH y para la detección de CS fue utilizado un anticuerpo biotinilizado monoclonal CS-56 y revelados por el método de la peroxidasa.
A los 9 y 10 dg las CGPs fueron observadas en fase de migración y a los 11 y 12 dg en fase de colonización. Nuestros resultados revelan que las concentraciones de AH y CS varían durante las distintas fases del proceso migratorio. Cuando el proceso migratorio ha finalizado AH disminuye y CS aumenta en la ruta migratoria de las CGPs.
Parcialmente financiado por Proyecto Dicyt de la Universidad de Santiago de Chile.

P-9 TRANSPORTADORES DE HEXOSAS EN PROSTATA HUMANA. ANALISIS IN SITU E IN VITRO. (Hexose transporters in human prostate. An in situ and in vitro analysis).
Barberis, M.S., Reinicke, K. Laboratorio de Neurobiología Celular y Tumoral. Dpto. Histología y Embriología. Universidad de Concepción.(Patrocinio: L. Coloma.)

Existe bastante desconocimiento del metabolismo de la próstata, glándula que incorpora glucosa y aspartato para la síntesis y secreción de fructosa y de altas concentraciones de citrato. No se conocen las isoformas de glucosa expresadas en las células glandulares. La detección y localización de estas moléculas puede contribuir a dilucidar interrogantes del metabolismo particular de esta glándula. Extractos totales de RNA de tejido prostático hiperplásico, se analizaron mediante la técnica de PCR *in vitro*, utilizando partidores específicos para secuencias de ARNm de las distintas isoformas de GLUTs humanos. Los productos de PCR amplificados se secuenciaron para comprobar su identidad. Los estudios se correlacionaron con análisis de inmunolocalización de 85 biopsias de pacientes con adenoma prostático, utilizando anticuerpos policlonales dirigidos contra las diferentes isoformas de GLUTs. Estudios *in vitro* de PCR permitieron reconocer las isoformas 1, 3 y 5 de GLUTs, las que posteriormente fueron confirmadas por secuenciación. Estos resultados son concordantes con análisis inmunocitoquímicos que muestran sobreexpresión de GLUT1 (transportador de glucosa) en células glandulares basales y de GLUT5 (transportador de fructosa) en la porción apical de células superficiales, en la mayoría de los adenomas analizados, mientras que GLUT3 se detectó sólo en células musculares estromales de algunos adenomas prostáticos.
Financiamiento: Proyecto: DIUC 98.035.001-1.

P-10 ESTUDIO MORFOMETRICO DE CORDONES UMBILICALES HUMANOS DE EMBARAZOS DE TERMINO NORMALES USANDO UN SISTEMA DE ANALISIS DE IMAGENES DIGITALES. (Morphometric study of human umbilical cords of normal term pregnancies using a digital image analysis system).
Tolosa González, J.; El Husein Parrao, M. y Pereda Tapiol, J.. Laboratorio de Embriología Humana, Facultad de Ciencias. Médicas, Universidad de Santiago de Chile.

Muchas de las patologías concomitantes con la gestación pueden manifestarse en cambios morfológicos a nivel del cordón umbilical. El objetivo de este estudio piloto fue establecer una base de análisis morfométrico comparativo de cordones umbilicales de embarazos de término normales que permitiera generar criterios cuantitativos de normalidad morfológica.
Los cordones umbilicales se obtuvieron del Hospital Barros Luco – Trudeau, fueron sexados, disectados en segmentos (proximal a recién nacido (pRN) y proximal a placenta (pP)), fijados en paraformaldehído al 4% en tampón fosfato, deshidratados, incluídos en parafina y cortados transversalmente en secciones de 5μm de grosor. Las secciones fueron teñidas con PAS/Alcian Blue, montadas y observadas en lupa estereoscópica. Las imágenes de estas secciones fueron tomadas con una cámara digital (Fujifilm), incorporadas al computador y analizadas con el programa NIHimage. El análisis estadístico se realizó con el programa Statistica.
Las variables analizadas en este estudio fueron área, perímetro y diámetro mayor y menor de la sección transversal del cordón umbilical. Área, perímetro y diámetro mayor y menor de arteria, vena y lumen de vena umbilical y área de la gelatina de Wharton. Cada una de estas variables fue cuantificada para cada segmento del cordón umbilical, dentro de una misma condición de sexo y comparada entre los sexos y entre los segmentos.
Los datos obtenidos del análisis de varianza para la muestra estudiada evidencian diferencias significativas entre las distintas variables analizadas respecto del segmento del cordón (pRN y pP) y especialmente en relación al sexo, siendo las diferencias más importantes para el segmento placentario en el sexo femenino respecto de los demás segmentos.
Financiado por Proyecto Dicyt de la Universidad de Santiago de Chile.

P-11 CARACTERIZACION DEL GEN QUE CODIFICA PARA EL FACTOR SIGMA PRINCIPAL DEL PATOGENO DE PECES, *Renibacterium salmoninarum*. (Characterization of the principal sigma factor of the fish pathogen. *Renibacterium salmoninarum.*
Barril, A., Concha, M.I., Figueroa, J. y León, G. Instituto Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia. Patrocinio: Gloria León.

La enfermedad bacteriana del riñón (BKD), causada por *Renibacterium salmoninarum*, es una patología crónica y sistémica que afecta a las especies de los géneros *Oncorhynchus*, *Salmo* y *Salvelinus*. A pesar de su relevancia económica y epidemiológica, este patógeno intracelular ha sido escasamente caracterizado a nivel genético.
Utilizando una estrategia diseñada para el aislamiento de posibles genes de virulencia del patógeno, se obtuvo el clon pAB27, que contiene un fragmento de DNA genómico de 2,6 kilobases, ligado al vector pUC19. Este inserto clonado presenta un marco de lectura abierto que codifica para una proteína de 462 aminoácidos, con un peso molecular estimado de 50,1 kDa. La secuencia aminoacídica deducida de la proteína tiene una extensa homología con la subunidad sigma principal de la RNA polimerasa de una gran variedad de eubacterias. Todos los dominios propuestos como funcionales para los factores sigma se encuentran igualmente conservados en la proteína de *R. salmoninarum*. Por análisis comparativo de la proteína completa, el putativo factor sigma de *R. salmoninarum* posee un 74% de identidad de residuos, con la correspondiente proteína sigma de *Streptomyces coelicolor*. Sin embargo, el gen de *R. salmoninarum* parece no estar organizado dentro de un operón como ocurre en otras especies bacterianas. Financiado por Proyecto Fondecyt 1951195.

P-12 CARACTERIZACIÓN PARCIAL DEL SITIO DE UNIÓN PARA PEROXIDASA DE MEMBRANAS DE RIBETE EN CEPILLO DEL INTESTINO DEL PEZ *Cyprinus carpio*. (Partial characterization of the peroxidase-binding site in the brush border membrane of *Cyprinus carpio* intestine.)
Molina, H., Santander, C., Villanueva, J. y Amthauer, R. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

En el pez *Cyprinus carpio*, el proceso de internalización de proteínas intactas en el intestino ha sido estudiado utilizando peroxidasa (HRP) como trazador. Nuestro grupo ha demostrado por inmunocitoquímica la activa internalización de HRP y con técnicas bioquímicas, su localización en endosomas. Utilizando un ensayo soluble, hemos demostrado que HRP se une específicamente a membranas de ribete en cepillo (BBM). Todos los antecedentes disponibles sugieren la participación de receptores en la internalización de HRP. Con el propósito de identificar y caracterizar parcialmente estos receptores desarrollamos un ensayo de "ligand blotting". En distintas preparaciones de BBM hemos detectado la unión de HRP a una sola banda de proteínas de un PM estimado en geles Tris-Tricina de 15 kDa. La unión sólo se detecta bajo condiciones no reductoras y es inhibida >90% por un exceso de HRP inactivada y por un aumento de la fuerza iónica. Adicionalmente, en ensayos en gota se demostró que HRP se une en forma específica y saturable a las BBM inmovilizadas con un Kd=25,4 nM, similar al obtenido en el ensayo soluble. Finalmente, se determinó que el sitio de unión corresponde a una proteína periférica de membrana, localizándose sólo en BBM y no en membranas basolaterales.
Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1980993

P-13 EXPRESION DE ENZIMAS HIDROLITICAS EN BIOANTAGONISTAS DE PATOGENOS DE TOMATE (Expression of hydrolytic enzymes in bioantagonists of tomato pathogens). Reyes, M., Montealegre, J., Besoaín, X., Pérez, L. M. Dep. Bioq. Biol. Mol. Fac. Cs. Quím. Farm., U. De Chile. E-mail: lperez@abello.dic.uchile.cl

La expresión de quitinasas (Ch), glucanasas (Gl) y proteasas (Pr) constituye uno de los mecanismos que usan algunos hongos para controlar a los fitopatógenos. Estas enzimas hidrolizan componentes de la pared celular de los patógenos, y su expresión diferencial puede permitir la selección de los bioantagonistas más adecuados.
Se seleccionaron aislamientos de *Trichoderma* y se enfrentaron a *Fusarium oxysporum, Rhizoctonia solani* y *Pyrenochaeta lycopersici*, patógenos de tomate, a través de cultivos duales. Los *Trichoderma* se crecieron en medios líquidos que contenían quitina de crustáceos o glucanos de levadura o paredes de los patógenos como única fuente de carbono. La expresión de Ch, Gl y Pr se analizó a través de zimogramas luego de separar las proteínas por PAGE nativo.
El patrón isoenzimático observado dependió del sustrato utilizado y fue característico para cada aislamiento. La expresión de Ch se pudo correlacionar con la capacidad de cada *Trichoderma* para antagonizar a los patógenos de tomate.
La expresión diferencial de Ch, Gl y Pr permite seleccionar a los mejores hongos antagonistas de patógenos de tomate.
Financiamiento FONDECYT 1990785.

P-14 AISLAMIENTO DE UNA BACTERIOCINA DE *Shigella flexneri*. (Isolation of a bacteriocin of *Shigella flexneri*). Hubert, E.(1), Lobos, O. (2), Padilla, C. (2) Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología (1) y Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca.

Se analizó la capacidad bacteriocinogénica en cepas de *Shigella flexneri* aisladas de coprocultivos de pacientes con diarrea aguda. En algunas de estas cepas se demostró la producción de bacteriocinas con actividad letal sobre *Escherichia coli* y *Shigella sonnei*. El interés de realizar este trabajo radica en el hecho que hasta la fecha, no se han estudiado bacteriocinas provenientes de estas cepas bacterianas. El estudio de ellas permitirá, a futuro, comparar estas nueva bacteriocinas, con las colicinas.
Para lograr este objetivo, en este trabajo se purificó y caracterizó la bacteriocina obtenida de un cultivo de *Shigella flexneri*. El cultivo se trató con 50% de acetona fría, se centrifugó y el precipitado se resuspendió y dializó en tampón Tris-HCl 50 mM, pH 8. La muestra se aplicó a una columna de DEAE-Sephadex y la bacteriocina se eluyó con 0,2 M NaCl. Las fracciones con actividad se concentraron mediante liofilización el cual se aplicó a una columna de Sephadex G-100. Las fracciones con actividad se reunieron y correponden a la bacteriocina purificada. Análisis de está ultima fracción mediante geles de poliacrilamida indicaron la presencia de una banda de proteína, con un peso molecular estimado de 60.000 Da. Se discutirá la estabilidad al pH, la temperatura y a la acción de enzimas proteolíticas.
Los resultados obtenidos permitirán comparar esta nueva bacteriocina con las colicinas actualmente estudiadas.
Proyecto ENLACE DIAT N° 45481.

P-15 CARACTERIZACION PARCIAL DE UN ANTIGENO ESPECIFICO DE *Piscirickettsia salmonis* (Partial characterization of a specific antigen of *P. salmonis*) Zahr, M & Marshall, S. Laboratorio de Genética Molecular, Instituto de Biología. Facultad de Ciencias Básicas y Matemáticas. Universidad Católica de Valparaíso

P. salmonis, el agente causal de la piscirickettsiosis ha ocasionado en los últimos años importantes pérdidas económicas a la salmonicultura chilena. Este patógeno ha sido aislado a partir de varias especies de salmónidos, causando una infección sistémica que afecta a la mayoría de los órganos internos produciendo altas mortalidades.
Debido a su naturaleza intracelular obligada, *P. salmonis* solamente se puede replicar "in vitro", lo que hace difícil la obtención de antígenos purificados. Por ello, hasta ahora existe poca literatura relacionada con la caracterización antigénica de esta bacteria y no se conoce de antígenos obtenidos de "in vivo".
En este trabajo se presenta la caracterización parcial de un polipéptido inmunogénico, obtenido por un método de extracción diferencial a partir de tejidos infectados con *P. salmonis*, el cual es común a las tres especies de salmónidos cultivados en Chile. Se ha observado la inmunoreactividad usando anticuerpos policlonales poli y monoespecíficos, como también sueros de los mismos peces infectados detectándose con estos últimos una respuesta inmune humoral baja. El polipéptido està presente en todas las cepas estándar conocidas "in vitro".
La detección de este inmunógeno será de importancia para estudios posteriores de análisis inmunológicos de este patógeno y el desarrollo de una vacuna eficaz contra la piscirickettsiosis.
Financiado por Proyecto FONDEF 96/ 1038

P-16 ESTANDARIZACION DE PIGMENTOS CLOROFILICOS POR HPLC Y ESPECTROFOTOMETRIA (HPLC and spectrophotometric methods for chlorophyllous pigments standardization). Ojeda M.[1], Schoch S.[2], Ihl M.[1].Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingenieria, Ciencias y Administración. Universidad de La Frontera, Casilla 54-D, Temuco. [2]Botanisches Institut der Universität München, Munich, Alemania.

Los pigmentos, como colorantes naturales, son importantes en alimentos, por ser el color la primera impresión de la persona frente a un alimento. En productos hortofrutícolas verdes, el color cambia con los diferentes procesamientos a que son sometidos éstos para preservarlos (congelado, deshidratado, enlatado). Es importante entonces disponer de un método rápido y reproducible para identificar y cuantificar los principales pigmentos clorofílicos que forman parte de una hortaliza verde.
Para estandarizar los pigmentos clorofílicos esterificados (clorofila *a*, clorofila *b*, feofitina *a*, feofitina *b*) se usa clorofila *a* y *b* Sigma. A partir de éstas, por acidificación suave y controlada, se obtienen las correspondientes feofitinas. Para los no esterificados (clorofilida *a*, clorofilida *b*, feofórbido *a*, feofórbido *b*), se usaron pigmentos purificados, extraidos después de actuar la enzima clorofilasa activa, proveniente de hojas de *Ailanthus altissima*; los feofórbidos se obtienen por acidificación controlada de las clorofilidas. Todos los pigmentos, disueltos finalmente en acetona, se identifican y cuantifican por HPLC, corroborado por espectrofotometría. Se presentan además resultados de la acción de la clorofilasa de acelga, que demuestra la utilidad de la metodología diseñada para entender los procesos bioquímicos que ocurren en células vegetales cuando se observa un cambio en el color verde.
Fianciamiento Proyecto FONDECYT 1980392

P-17 **PURIFICACION DE LA ENZIMA DEHIDROASCORBATO REDUCTASA DE *Trypanosoma cruzi*** (Purification of dehydroascorbate reductase from *Trypanosoma cruzi*) Loayza, R.[1]; Clark, D.[1]; Herrera, P.[1] y Arévalo, J.[1,2] (1)Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad Peruana Cayetano Heredia. (2) Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt. Patrocinio: Venegas, Juan.

Homogenizados crudos de *Trypanosoma cruzi* tienen actividad de dehidroascorbato reductasa, es decir, pueden reducir enzimáticamente el dehidroascorbato a ácido ascórbico en presencia de glutatión. Así, se propuso la existencia de un ciclo redox para la vitamina C y la presencia de una dehidroascorbato reductasa en este parásito. Se ha purificado una enzima responsable de esta actividad mediante precipitación con $(NH_4)_2SO_4$ (45-60 % de saturación), cromatografía de intercambio aniónico con Sephadex A-25 (un peak de actividad específica eluido con 0,4 M NaCl) y de filtración con Sephadex G-100 (un único peak de actividad específica). Se obtuvo una recuperación de actividad total del 18 %, de proteínas totales de 0,04 % y 500 veces de purificación. La actividad de esta proteína es inhibida por calor (100 % a 100 °C), proteinasa K (100 % con 500 µg/ml) y por aloxano (100% con 8 x 10^{-6} M). Se calculó un peso molecular de 37100 Da por cromatografía de filtración y marcadores de bajo peso molecular, lo cual está de acuerdo con aquél calculado por electroforesis (SDS/PAGE) de 34600 Da. Estos resultados sugieren que la proteína es un monómero cuyo peso molecular está dentro del rango reportado en otras especies.
Agradecimiento: Cátedra Presidencial a Hermann M. Niemeyer.

P-18 **METILACION DIFERENCIAL DE SECUENCIAS PROMOTORAS ASOCIADAS A LA REGULACION TRANSCRIPCIONAL DE OSTEOCALCINA.** (Differential methylation of promoter sequences associated with transcriptional regulation of the osteocalcin gene). Villagra, A. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Patrocinante: María Imschenetzky.

La metilación del ADN constituye uno de los mecanismos regulatorios fundamentales en procesos como transcripción génica, reparación del ADN e "imprinting" genómico. En organismos superiores la metilación ocurre en secuencias CG o CNG, a través de una reacción catalizada por la enzima ADN metiltransferasa. Producto de esta reacción, se inducen alteraciones en la estructura genómica local, los que reducen interacciones ADN-Proteína necesarias para la transcripción génica. El gen codificante para osteocalcina (OC), se expresa específicamente en células óseas y su transcripción está controlada por elementos localizados dentro de los primeros 1000 pb corriente arriba. Con el objeto de establecer una relación entre la metilación específica del promotor y el grado de expresión de Osteocalcina, hemos estudiado los posibles sitios de metilación en secuencias promotoras de este gen en células óseas que expresan (ROS 17/2.8) y no expresan (UMR106)OC. También hemos establecido diferencias en el patrón de metilación en células no óseas (Hepatoma H4IIE). Los resultados indican una clara predominación de sitios CpG metilados en el promotor de OC para las líneas celulares H4IIE y UMR106, las cuales se encuentran demetiladas en células ROS17/2.8.
Planteamos que el patrón de metilación de este promotor varía con el tipo celular y es dependiente del grado de expresión que tenga.
Fondecyt 1971077

p-19 **TOXICIDAD DE AMINOCROMO EN NEURONAS DE LA CORTEZA CEREBRAL Y EL POSIBLE PAPEL DE LA ACTIVACION DE RECEPTORES DE GLUTAMATO.** (Aminochrome toxicity in neurons of cerebral cortex and possible role of activation of glutamate receptors) Marcelain, K.[1]; Quintanilla, M.E[1]. y Caviedes, R[2]. [1]Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina y [2]Programa de Morfología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. Patrocinadores: Proyecto FONDECYT 1990622 y el DID de Universidad de Chile.

El efecto del aminocromo sobre las células neuronales de la corteza cerebral fue estudiado. En concentraciones de 150 µM de dopamina se observó una toxicidad de un 9 % en incubaciones de 2 h. La incubación con aminocromo (150 µM) fue 10 veces más tóxica que la con dopamina bajo las mismas condiciones. Para estudiar si los efectos tóxicos se relacionan con la excitotoxicidad del glutamato, se usó antagonistas contra NMDA y el receptor AMPA/kainato (AP-5 y NBQX, respectivamente). La incubación de las células con aminocromo (150 µM) en presencia de 100 µM D-AP5 resultó en una inhibición parcial de la toxicidad del aminocromo (20%). Sin embargo, el antagonista del receptor AMPA/kainato, NBQX (100 µM), mostró una inhibición más significativa de la toxicidad (66%). Incubación de las células con 200 µM glutamato sólo resultó en un 10 % de toxicidad. Además, se encontró que NBQX puede inhibir la autoxidación de aminocromo durante la reducción con DT-diaforasa. Concluimos que la toxicidad del aminocromo no es dependiente de la vía de excitotoxicidad del glutamato, ya que la inhibición observada con NBQX no se debe a activación de los receptores de glutamato (NMDA y AMPA/kainato) sino a su capacidad de inhibición de la autoxidación de aminocromo.

P-20 **INCORPORACION DIFERENCIAL DE ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS A FOSFOLIPIDOS Y TRIGLICERIDOS EN CELULAS PROMIELOCITICAS HUMANAS HL-60.** (Diferential incorporation of poliunsaturated fatty acids to phospholipids and triglycerides in human promyelocytic HL-60 cells). Angerstein P.A. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile (Patrocinio: Dr. Miguel Bronfman)

Las células promielocíticas humanas HL-60 han sido extensivamente usadas como modelo de diferenciación celular. Los ésteres de forbol inducen diferenciación de estas células a macrófagos, mientras qe el ácido retinoico induce su diferenciación a granulocitos. En la diferenciación de estas células a macrófagos ha sido involucrado un nuevo receptor nuclear, el PPARγ(peroxisome proliferators activated receptor), el que forma heterodímeros con el receptor del ácido retinoico. Este factor nuclear aumenta su expresión al diferenciar las células a macrófagos, y ha sido también demostrado que regula la expresión del receptor de LDLoxidada (LDLox), estimulando tanto la unión de LDLox como su internalización. No se conocen exactamente el o los ligandos de PPARγ, aunque hay evidencia de que diversos eicosanoides, hidroxiácidos y prostaglandinas podrían ser sus ligandos naturales. Dado que estos ligandos se generan a partir de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) hemos considerado de interés determinar si es posible modificar la composición en ácidos grasos de células HL-60, para determinar en una segunda etapa, si células con diferente contenido en PUFA reaccionan diferencialmente a estímulos de tranformación a macrófagos o a granulocitos. Con ese objetivo se incubaron células HL-60 con diferentes concentraciones de ácido araquidónico (AA), ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA). La incubación de HL-60 con AA y EPA resulta en un fuerte enriquecimiento de estos ácidos en fosfolípidos. En contraste, en las incubaciones con DHA, no se detecta incorporación de este ácido a fosfolípidos y se inhibe la incorporación de otros ácidos grasos, especialemente oleico (C18:1n-9). El DHA se incorpora preferencialmente a triglicéridos constituyéndose en más del 40% del total de ácidos grasos en presentes en esta fracción. El DHA tiene un efecto inhibitorio sobre la proliferación celular y activa notablemente la diferenciación de las célula HL-60 inducida por un ester de forbol. (financiamiento: FONDECYT proyecto 1990155 y Catedra Presidencial en Ciencias a M.Bronfman).

P-21 **CITOQUINAS INFLAMATORIAS EXPRESADAS EN OVIDUCTO HUMANO Y SU INDUCCION POR *Neisseria gonorrhoeae in-vitro*.** (Inflammatory cytokines expresed in the human oviduct and their induction by *Neisseria gonorrhoeae in vitro*). Maisey K[1], Fernández R[1], Valdés D[1], Imarai M[1], Delgado J[2], Aguilera J[2], Cárdenas H[1], Velásquez L[1] 1: Univ. de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología, 2: Servicio de Obstetricia y Ginecología, Hospital Félix Bulnes, Santiago, Chile. Financiado por DICYT USACh.

El oviducto humano puede desarrollar salpingitis a partir de la infección por *N. gonorrhoeae*. Se ha propuesto que la infección es capaz de producir daño celular secundario por la liberación de compuestos inflamatorios y de esta forma contribuir al desarrollo de la Salpingitis. Por esto, caracterizamos la expresión de citoquinas inflamatorias y su inducción por *N. gonorrhoeae*. Segmentos de oviductos (n=4), obtenidos de pacientes sometidas a cirugía ginecológica por razones ajenas al proyecto, fueron perfundidos con una suspensión de gonococos. A los 0, 30 y 240 min post infección se tomó una muestra para la extracción de RNA. Mediante la técnica de transcripción reversa acoplada a la reacción de la polimerasa en cadena (RT-PCR) se amplificaron los mRNA codificantes para TNF-α, TNFR-1, TNFR-2, IL-1β, GM-CSF, GM-CSFR y GAPDH. En respuesta a la infección se inducen el mRNA de TNF-α e IL-1β y no modifican su expresión TNFR-1, TNFR-2. No se logro la amplificación de GM-CSF ni GM-CSFR. Estos resultados sugieren que el daño celular que se observa durante la salpingitis puede ser causado por la liberación de compuestos inflamatorios.

P-22 **REGULACION DE LA INTERACCION «IN VITRO» DE ADAPTINAS CON MEMBRANAS** (regulation of the «in vitro» interaction of adaptins with membranes). Alberdi. A.J., Jimenez, V. y Sosa M.A. - Instituto de Histología y Embriología - U.N.Cuyo - Mendoza (Argentina).

Las adaptinas son proteínas que forman parte de la cubierta de clatrina, de las vesículas endocíticas (adaptinas 2, AP-2) y de aquellas que intervienen en el transporte desde el aparato de Golgi a lisosomas (adaptinas 1, AP-1). Factores de membrana y citosólicos podrían participar en la regulación del ensamble y desensamble de adaptinas. En nuestro laboratorio hemos puesto a punto un ensayo «in vitro» para estudiar la interacción de adaptinas a membranas y factores que la regulan. En este trabajo demostramos que Calcio (Ca2+)aumenta levemente el «binding» de AP-2 purificadas o de citosoles crudos a membranas y que un quelante de éste, BAPTA, tiene un fuerte efecto inhibitorio. Este efecto fue máximo con 5 mM del quelante y se revirtió con el agregado de Calcio. Cuando las membranas fueron lavadas previamente con BAPTA, éstas disminuyeron su capacidad de interactuar con AP-2. Curiosamente, otro quelante, como EGTA, no produjo inhibición alguna. TPEN, un quelante de Zn2+, tampoco tuvo algún efecto sobre el «binding». BAPTA también interfirió en el «binding» de AP-1 a membranas, pero su efecto fue más leve.Concluimos que Calcio participaría regulando la interacción de APs a membranas, y según nuestros resultados podría ser por medio de una proteína calcio dependiente.

PANELES I
BIOMEDICINA

P-23 **p53: ¿MARCADOR PARA EXPOSICION HUMANA A COMPUESTOS GENOTOXICOS?** (p53: a marker for human exposure to genotoxic compounds?) Aranda M., Carrasco J., Diaz A., Bitrán R. y Venegas W. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

El gen supresor de tumores p53 codifica una fosfoproteína nuclear, factor de transcripción multi-funcional, involucrado en el control del ciclo celular, sobrevida e integridad del ADN. La proteína silvestre induce la detención en G1 o la apoptosis en células expuestas a agentes mutagénicos. La pérdida de la actividad p53 predispone a las células a la adquisición de mutaciones oncogénicas y favorece la inestabilidad genética. Como p53 juega un rol esencial en la respuesta celular frente a un daño inducido en el ADN, su mutación puede ser determinante en la respuesta tumoral a la quimio o radioterapia. Para correlacionar las alteraciones p53 con cancerígenos exógenos, se analizaron 15 individuos expuestos ocupacionalmente a Pentaclorofenol (PCF), con altos índices de este compuesto en sangre y orina. Las mutaciones puntuales se detectaron sometiendo la secuencia en estudio a dos amplificaciones por PCR seguidas de una transcripción *in vitro*. Los DNA transcritos derivados de controles normales se hibridizaron con los transcritos que contenían mutaciones y los híbridos fueron sometidos al tratamiento de RNAsa (NIRCA™ Ambion) y detectados con tinción de bromuro de etidio. Paralelamente se utilizó electroforesis en gradiente (DGGE) y secuenciación de los productos de PCR del gen p53. La evaluación satisfactoria de biomarcadores de daño al DNA en células humanas es de gran valor en epidemiología molecular.
Financiado por Proyecto FONDECYT # 1990212 y DICYT-USACH.

P-24 **FUNCION DEL DIACILGLICEROL Y CERAMIDA EN APOPTOSIS INDUCIDA POR FAS-L EN CELULAS LINFOIDEAS B, A20.** (Role of diacylglycerol and ceramide in A20 B lymphoma cells during Fas-induced apoptosis). Martin Hunn# and Andrew F.G. Quest*#. #Institute of Biochemistry, University of Lausanne, Epalinges, Switzerland. *Prog. of Cellular and Molecular Biology, ICBM, University of Chile, Santiago, Chile. Supported by Fondecyt Chile, the Swiss National Science Foundation and the Swiss Cancer League.

Apoptosis is a process of fundamental importance for maintenance of cellular homeostasis in multicellular organisms. In many lymphoid cells, agonists of the tumor necrosis factor (TNF) receptor family, including TNF-alpha and Fas ligand (FasL), induce apoptosis and help thereby to prevent damage that may result from prolonged activation of B- and T-cells during an immunological reaction. In addition to activation of specific proteases, such as Caspase-8 and -3, lipid second messengers, including diacylglycerol (DAG) and ceramide, are formed. To investigate the role of these lipid second messengers intracellular DAG and ceramide levels were measured in A20 B lymphoma cells upon incubation with FasL. The data obtained showed that FasL induced within 20 min the formation of DAG but not ceramide. Significantly increased levels of endogenous ceramide formation were observed only several hours after FasL stimulation, at a timepoint when the decision-making process to undergo apoptosis had been concluded in these cells. The presence of D609, a putative PC-PLC inhibitor, in these experiments eliminated DAG formation and reduced basal DAG levels, yet increased ceramide levels. D609 also increased about two-fold FasL-induced Caspase-3 activity. In the presence of membrane-permeable DAG, D609-enhanced Caspase-3 activation was diminished, indicating that the endogenous DAG levels determined the rate of Fas-induced Caspase-3 activation in A20 cells. By contrast, cell permeable ceramide analogs did not enhance Caspase-3 activity triggered by suboptimal FasL concentrations. Taken together, the data indicate that ceramide is not important in the decision-making phase of FasL-induced apoptosis in A20 cells while reduced DAG levels render these cells more sensitive to FasL.

P-25 **EFECTOS DEL PLOMO SOBRE NEUMOCITOS TIPO II Y CELULAS DE CLARA EN RATAS CON FIBROSIS PULMONAR INDUCIDA POR BLEOMICINA.** (Effects of lead on pneumocytes II and Clara cells in rats with bleomycine-induced pulmonary fibrosis) Villarroel L., Couve E., Dussaubat N. y Oyarzún M. Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso e ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El plomo, constituyente del material particulado del *smog*, altera las células de Clara. Estudiamos el efecto de la exposición a Pb sobre neumocitos II y células de Clara en rata normal y con fibrosis pulmonar por bleomicina (BLM). Veinte ratas Sprague-Dawley fueron instiladas vía intratraqueal con BLM 1U/100 g de peso 30 días antes de administrar 1% de acetato de Pb en agua de bebida, durante 8 y 15 días, comparándose con sus controles. Se realizó análisis morfométrico y cualitativo usando microscopía electrónica de transmisión. En los neumocitos II de las series con plomo los volúmenes: celulares (263 ±10,5 versus 457 ±44 μm^3), mitocondrial y de productos de secreción comparados con los controles disminuyeron ($p<0,05$). En las células de Clara el volumen celular se mantuvo y el mitocondrial aumentó. Los volúmenes de ambas células disminuyeron en las series con BLM+Pb, agregándose daño mitocondrial y de las membranas celulares. En las series con Pb se observó inclusiones paracristalinas en las mitocondrias de neumocitos II e incremento de colágeno. Concluimos que la exposición a Pb en un pulmón con fibrosis inducida por BLM produce un aumento de colágeno y alteraciones celulares especialmente en neumocitos II.
Financiamiento: FONDECYT 1981127.

P-26 **ALTERACIONES EN LA TRANSMISION EXCITATORIA INDUCIDAS POR LA ALCOHOLIZACION AGUDA PRENATAL** (Alterations on excitatory transmission-induced by prenatal acute alcoholization). Estrella,C., Contreras,L., Cabrera,R. Laboratorio de Investigaciones Cerebrales, CONICET. Mendoza, Argentina. Patrocinio: Dr. Miguel Sosa.

El consumo de alcohol durante la preñez determina alto riesgo de teratogenicidad. El glutamato juega un importante rol neurotrófico en el desarrollo cerebral. El receptor glutamatérgico NMDA es muy sensible a la inhibición aguda por etanol. Debido a su rol en la plasticidad sináptica y desarrollo neuronal, contribuiría a los efectos deletéreos del alcohol durante la gestación y a los déficits cognitivos en la vida postnatal. Nuestro objetivo fue estudiar la participación del sistema glutamatérgico y su relación con el GABAérgico como posibles efectores finales de las alteraciones transitorias y permanentes a nivel del SNC, ocasionadas por la alcoholización aguda prenatal. Se utilizaron ratas macho de 21 días postnatales, nacidas de madres que recibieron etanol (2.9 g/kg en 24%v/v) i.p. o salina en el día 8 de preñez. Se evaluó la liberación de ^{3}H-Glutámico inducida por K^+ (28mM), NMDA (200uM) o GABA (20mM) utilizando superfusión de cortes aislados de Cuerpo Estriado. Los datos fueron analizados utilizando test de *t*. Una disminución significativa en la liberación inducida de ^{3}H-Glutámico frente a K^+ o NMDA fue observada en los grupos experimentales ($p<0.01$). GABA potenció este efecto ($p<0.01$). Concluimos que la alcoholización aguda prenatal en el día 8 de desarrollo embrionario produciría una permanente hipofunción glutamatérgica asociada a una hiperfunción GABAérgica en la etapa postnatal temprana.

P-27 **ANALISIS DE CLONETS DE *Trypanosoma cruzi* EN PACIENTES CHAGASICOS DE CHILE.** (Analysis of *T. cruzi* clonets on chagasic patients of Chile). Ortiz, S., Campillay, R.. Wallace, A., Solari, A. Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Casilla 70086. Santiago 7, Chile.

Trypanosoma cruzi es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas, que afecta varios millones de personas en América Latina. Considerando la alta variabilidad genética entre los clones, el pleomorfismo de la enfermedad y la diversidad biológica de *T.cruzi,* se podría esperar alta variabilidad de respuestas de los pacientes frente al tratamiento con antiparasitarios, de modo que se hace necesaria la identificación de los clones que circulan en el hombre y en los insectos vectores.Las técnicas usuales empleadas en la caracterización de poblaciones de *T. cruzi* carecen de un buen nivel de sensibilidad y requieren un paso obligado de amplificación del parásito mediante xenodiagnóstico y/o cultivo. Durante este proceso puede ocurrir selección de clones de parásito y la interpretación de los datos epidemiológicos obtenidos podría sufrir desviaciones de importancia médica.Utilizando la reacción en cadena de la polimerasa se han amplificado y marcado con 32P regiones variables del DNA de kinetoplasto de tres clones mayores previamente aislados y caracterizados por isoenzimas y esquizodemas. Estas regiones variables son utilizadas como sondas específicas para el reconocimiento directo de DNA amplificadas por PCR desde parásitos presentes en la sangre de pacientes chagásicos de áreas endémicas para esta enfermedad en Chile.Mediante este método se han detectado los siguientes clones de *T. cruzi* en orden de prevalencia: clon 39 (cepa NR) que corresponde a un zymodeme Z2 bol; clon 19 (cepa Sp104) que corresponde a un zymodeme Z1; y clon 33 (cepa CBB) que corresponde a un zymodeme Z2 bra.Algunos de los casos analizados dan reacción mixta clon 39- clon 19. En menor proporción también es posible observar reacción mixta clon 39- clon 33. Sólo se ha observó reacción mixta clon 33-clon 19 en solo un caso. En general se observa un marcado predominio del clon 39 en todas las regiones estudiadas. Un número muy bajo de individuos no reaccionó con ninguna de las sondas.
Financiamiento Fondecyt 197-0768.

P-28 **PARAMETROS DE ESTRES OXIDATIVO EN RIÑON DE RATA CON COLESTASIA.** (Oxidative stress parameters in kidney of cholestatic rats). Orellana, B.M., Jiménez, P., Thielemann, L. y Rodrigo, R., ICBM, Programa de Farmacología, Fac de Medicina, U. de Chile.

El desbalance entre la velocidad de formación de especies reactivas de oxígeno y su consumo por los sistemas antioxidantes constituye el estrés oxidativo. El organismo se protege de esta injuria celular por mecanismos antioxidantes específicos como la tríada enzimática, superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa (GSHpx) y compuestos antioxidantes intracelulares como el glutatión (GSH). Estos mecanismos antioxidantes son especialmente importantes en situaciones patológicas como la colestasia extrahepática.
En este trabajo se evalúa si la colestasia produce estrés oxidativo a nivel renal. Ratas macho fueron sometidas a la ligazón del conducto biliar durante 7 días, lo que produjo colestasia evidenciada por un significativo aumento plasmático de la bilirrubina y sales biliares. Se determinó el efecto de la colestasia sobre el contenido de citocromo P-450, la actividad de las enzimas SOD, GSHPx y Catalasa, el contenido de GSH y la lipoperoxidación. A diferencia del hígado, la colestasia no alteró significativamente el contenido de citocromo P450 renal ni la actividad de las enzimas antioxidantes. Sin embargo, el contenido de GSH y la lipoperoxidación aumentaron.
Pese al aumento del GSH renal y la no modificación de las enzimas antioxidantes, el aumento de la lipoperoxidación indicaría que la colestasia experimental produciría estrés oxidativo en el riñón, lo que podría explicar la generación de ciertas patologias renales en colestasia .
Fondecyt 1990-784 y EDID-98-002

P-29 **REGULACION DE "SISTER OF P-GLYCOPROTEIN" POR MODIFICACIONES EN EL POOL DE SALES BILIARES.**(Regulation of Sister of P-glycoprotein by bile salts pool modifications). Pizarro M., Solís N., Arrese M., Accatino L. Departamento de Gastroenterología. Facultad de Medicina. P.Universidad Católica. Patrocinio: Amigo L.

La secreción de sales biliares (SB) es fundamental en la generación del flujo biliar. El transporte máximo (Tm) de SB es regulado por el tamaño del "pool" de SB. Estudios recientes sugieren que la proteína responsable del transporte de SB es la "sister of P-glycoprotein" (Spgp) ubicada en la membrana canalicular del hepatocito. El objetivo de este trabajo fue estudiar la regulación de esta proteína en condiciones de sobrecarga y depleción del "pool" de SB. Grupos experimentales en ratas: a) tratadas con ácido cólico al 1% en la dieta, por 4 días. b)fístula colédoco-yugular por 1 y 2 días. c) depletadas de SB por 24 h. Se determinó flujo biliar, secreción de SB y Tm de taurocolato (SB más importante en la rata). La Spgp fue evaluada en membrana canalicular, mediante Western blot.
La sobrecarga de SB (a y b) aumentó la expresión de la Spgp en la membrana, al igual que el Tm de taurocolato. Por el contrario, en los animales depletados de SB, la proteína disminuyó, coincidiendo con la caída del Tm de taurocolato.
Nuestros resultados, junto con apoyar la participación de esta proteína en el transporte canalicular de SB, indican que su expresión es regulada por modificaciones en el pool de SB. (FONDECYT 1971124 y 1990519)

P-30 **ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL VINO TINTO CHILENO SOBRE *Helicobacter pylori*.**(In vitro antibacterial activity of Chilean red wine upon *Helicobacter pylori*). Daroch,F.; Hoeneisen,M.;* González,C.; García,A. Departamento Microbiología, Facultad Ciencias Biológicas y *Departamento Botánica, Facultad Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. Concepción. Patrocinio: Oscar Matthei.

En los últimos años se han estudiado numerosas propiedades del vino tinto, algunas asociadas con compuestos involucrados con la salud. En este trabajo se investigó la actividad antibacteriana de 16 vinos tintos chilenos (Cabernet Sauvignon) sobre *H.pylori*, microorganismo que predispone a la aparición de úlceras gastroduodenales y cáncer gástrico.
Las cepas se cultivaron en agar Columbia suplementado con inhibidor Dent y sangre de cordero desfibrinada (37°C, microaerofilia) durante 5 días. La actividad antibacteriana se evaluó por difusión en agar, impregnando discos con volúmenes crecientes de vino y determinando el diámetro de los halos de inhibición del crecimiento.
El 100% de los vinos en estudio presentó actividad antibacteriana sobre *H. pylori*. De ellos, el 43.7% inhibieron 2 o más de las cepas ensayadas y los halos aumentaron progresivamente con el incremento de volumen de vino impregnado en los discos. Sólo 2 vinos demostraron una significativa actividad sobre la mayoría de las cepas estudiadas. Las cepas más susceptibles fueron aquellas que se aislaron de pacientes con Gastritis Crónica Activa, patología prevalente en Chile.
Los resultados demuestran que los vinos chilenos presentan actividad antibacteriana variable sobre *H.pylori*. Actualmente se trabaja en la identificación de los componentes del vino involucrados en esta actividad.
Financiamiento: Proyectos DIUC N°s 99.036.017-1.0 y 99.036.015-1.0

P-31 **AUMENTO EN LA EXPRESION DE FACTOR TISULAR EN MONOCITOS CIRCULANTES NO ESTIMULADOS EN UREMIA: MODULACION POR α-TOCOFEROL** (Increased expression of tissue factor in non-stimulated circulating monocytes in uremia: modulation by α-tocopherol). Cáceres, M. S., Ocqueteau, M., Jara, A., Arce, I., Panes, O., Pereira, J. y Mezzano, D. Departamentos de Hematología-Oncología y Nefrología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile.

Factor tisular (FT) es el principal activador de la coagulación intravascular; su expresión y modulación son de crucial importancia en enfermedades trombóticas. Mediadores inflamatorios inducen expresión de FT por monocitos, determinando un estado de hipercoagulabilidad. Pacientes con insuficiencia renal crónica cursan con un aumento en la generación de trombina, acompañado de aumentos plasmáticos de marcadores inflamatorios y oxidativos. En conjunto, estos factores determinan la acelerada evolución de aterosclerosis, principal causa de morbilidad y mortalidad en uremia. Estudiamos la expresión de FT por monocitos en pacientes urémicos y su posible modulación por vitamina E. Aislamos monocitos desde sangre periférica para medir expresión basal de FT (RT-PCR semicuantitativo), y encontramos un aumento significativo respecto a individuos sanos ($p=0,05$). La suplementación con α-tocoferol (800 UI diarias) resultó en disminución significativa de FT en monocitos, tanto a nivel de mRNA (RT-PCR, $p<0,00025$) como de proteína de membrana (citometría de flujo, $p<0,0007$). Estos hallazgos demuestran una expresión basal aberrante de FT por monocitos en uremia, probablemente relacionada con la activación de la coagulación en esta enfermedad. Vitamina E modifica transcripcionalmente esta expresión, postulando así una base molecular para su efecto en estos pacientes.

P-32 **OPTIMIZACION DE UN PROTOCOLO DE PCR Y RT-PCR *IN SITU* PARA LA DETECCION DE SECUENCIAS DE ADN Y ARN MENSAJERO.** (*In situ* PCR and RT-PCR optimization protocol to detect DNA and mRNA sequences) Godoy, A. Laboratorio de Neurobiología Celular y Tumoral, Departamento de Histología y Embriología, Universidad de Concepción. (Patrocinio: F. Nualart).

Aún cuando los métodos de PCR *in situ* y RT-PCR *in situ* permiten detectar secuencias de ADN y ARN mensajero con gran sensibilidad, todavía son poco utilizados en los laboratorios debido a su compleja estandarización. En este estudio se realizó un análisis detallado de diferentes variables que afectan significativamente los resultados obtenidos. Se estudió el efecto del medio de montaje de los cortes, tiempo de digestión con proteinasa K, post-fijación, bloqueo con trietanolamina, tiempo de digestión con DNasa I, tiempo y número de lavados post-PCR. Además, se evaluaron diferentes controles en la reacción de RT, PCR y en el proceso de detección de los productos de PCR mediante anticuerpos. Utilizamos muestras de carcinoma ductal invasor de mama fijadas e incluidas, analizándolas con partidores apropiados para detectar la secuencia del gen o el mensajero del transportador de glucosa GLUT1. La preservación del tejido y morfología celular dependieron directamente del tipo de medio de montaje utilizado, del tiempo de digestión con proteasa y de la post-fijación. La unión inespecífica se controló mediante doble tratamiento con trietanolamina y aumento en el tiempo y número de los lavados post-PCR. La incubación con DNasa I permitió una mejor detección de los mensajeros, obteniéndose una digestión óptima mediante un doble tratamiento con esta enzima. Todos estos análisis nos permitirán en un futuro cercano aplicar esta metodología en forma rutinaria al diagnóstico clínico para detección de secuencias virales y mensajeros en muestras de biopsias.
Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1980130.

P-33 **EFECTO DE LA COMPOSICION DE ACIDOS GRASOS EN LA DIETA SOBRE EL NIVEL DE LOS TRANSCRITOS PPAR.**(Effect of dietary fatty acid composition on PPAR transcripts level). Fuenzalida, L., Rojas, C. Laboratorio de Biología Molecular, INTA, Universidad de Chile. (Patrocina: Valladares, L.)

Los receptores activados por proliferadores peroxisomales (PPAR) son factores de transcripción que regulan la expresión de genes para proteínas involucradas fundamentalmente en el metabolismo lipídico y de la glucosa. Las isoformas de PPAR, α, β y γ, son codificadas por genes individuales y presentan una distribución tisular característica. Los PPAR son activados transcripcionalmente por, entre otros ligandos, ácidos grasos y sus derivados. Datos recientes sugieren que los ácidos grasos también modificarían el nivel de expresión de los genes PPAR.En este trabajo evaluamos el efecto de la modificación crónica de la composición dietaria de ácidos grasos sobre el nivel de los transcritos PPARα y PPARβ en ratas. Los animales fueron alimentados durante tres generaciones con dietas definidas, conteniendo distintas proporciones de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y polinsaturados. A partir del RNA proveniente de hígado, ojos y cerebro de ratas pertenecientes a las generaciones F2 y F3 se analizó, mediante hibridación con sondas específicas, el nivel de los transcritos PPAR en relación al mRNA para actina.Los resultados muestran un incremento en el nivel relativo de PPARα y β en hígado y de PPARβ en ojos de los animales sometidos a dietas con bajo contenido en ácidos grasos polinsaturados n-3.
Financiamiento: Proyecto Cátedra Presidencial 1996, IR: R. Uauy.

P-34 **SINDROMES DE PRADER WILLI Y ANGELMAN: DETECCION MEDIANTE PCR ESPECIFICO PARA DNA METILADO,** (Prader Willi and Angelman Syndromes: detection by methylation-specific PCR), Santa María, L.I., Alliende, M.A., Laboratorio de Citogenética y Biología Molecular, INTA, Universidad de Chile. (Patricinio: Fernández, M.)

Los síndromes de Prader Willi (SPW) y de Angelman (SA) son afecciones hereditarias con características fenotípicas y neuroconductuales muy diferentes, que están ligadas genéticamente al cromosoma 15q11-13. En esta región del cromosoma reside el gen de una ribonucleoproteína (SNRPN), cuya secuencia promotora se encuentra altamente metilada en el alelo materno y no-metilada en el alelo paterno. El 70% de los pacientes con SPW presenta una deleción en el cromosoma de origen paterno (no metilado) mientras que el 20% presenta disomía uniparental materna del cromosoma 15. En contraposición, en el 80% de los pacientes con SA se detecta una deleción en el cromosoma materno (metilado) y un 5% muestra disomía uniparental paterna. Hemos implementado un método de diagnóstico basado en la amplificación mediante PCR de las regiones metilables del promotor del gen SNRPN. Brevemente, el método consiste en la conversión de las citosinas (no metiladas) en uracilo mediante tratamiento del DNA de los pacientes con bisulfito de sodio. Utilizando partidores específicos para los alelos, se puede diferenciar las secuencias metiladas y no metiladas. Nuestros resultados muestran que la técnica permite diagnosticar de manera precisa y eficaz los casos de SPW y SA, por lo que constituiría el método de elección para la detección e intervención tempranas de los afectados.

PANELES I
GENETICA HUMANA

P-35 ESTUDIO DE MUTACIONES EN LOS LOCI BRCA1 Y BRCA2 EN FAMILIAS CHILENAS CON CANCER DE MAMA. (Study of mutations in the BRCA1and BRCA2 loci in Chilean families with mammary cance)r. Jara L, Buracchio B, López M, Aspillaga M, Avendaño I, Peralta O, Rousseau C y King MC. Dpto. Biología Celular y Genética, Fac. Medicina, U. de Chile.

El cáncer de mama ocupa el tercer lugar en frecuencia en el mundo. Estudios recientes revelan que en Chile presenta la tercera tasa de mortalidad. Mutaciones en los Genes BRCA1 y BRCA2 confieren un mayor riesgo a desarrollar cáncer de mama. En numerosas poblaciones caucasoides y en Japonesas, se han estudiado tipos y frecuencias de mutaciones en estos loci. En poblaciones Latinoamericanas, y en particular en la población Chilena, no se ha realizado ningún estudio referente a mutaciones en estos genes. Con el objeto de iniciar este tipo de estudios se han seleccionado 14 familias con riesgo de ser portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2. En cada familia se ha entrevistado al menos un probando, se ha reconstituido la genealogía y se les ha aplicado una encuesta en la que se incluyen preguntas relacionadas con su historia medica, reproductiva, etnia y factores de riesgo. Los probandos han firmado un consentimiento informado, donando una muestra de sangre, y se les ha informado respecto a los riesgos y beneficios de su participación. A partir de dichas muestras se ha obtenido DNA genómico y, se han amplificado por PCR 25 sitios de mutación en BRCA1 y BRCA2. Con los amplificados se han construido membranas mediante Dot-Blot las que están siendo hibridados con oligonucleótidos. Hasta el momento se han estudiado las mutaciones: 185 del AG (exón 2); 230 del AA (exón 3);300 T->G (exón 5); 309 T->G (exón 5); 331 +1G->A (exón 5); 332-11T->G (exón 6); 2595 del A (exón 11.2); 2596 del C (exón 11.2) y 2800 del AA (exón 11.2-11.3). Los resultados indican que las mutaciones 185 del AG; 230 del AA; 300 T->G; 309T->G; 332-11 T->G; 2595 del A; 2596 del C y 2800 del AA no están presentes en este grupo de familias. Sin embargo, la mutación 331+1G->A del exón 5 esta presente en tres de las familias, además se ha podido establecer: a) Una frecuencia destacable de cáncer uterino en las familias estudiadas, b) Ausencia de cáncer de ovario. C) la ausencia de asociación con la etnia. El trabajo se encuentra en la etapa de continuar con los estudios moleculares en este grupo de familias, junto con establecer contacto con otros pacientes para incrementar el numero de familias

P-36 ANALISIS DE ADN MEDIANTE RFLP APLICADO AL ESTUDIO DE PATERNIDAD: EXPERIENCIA EN 66 CASOS. (DNA Analysis by RFLP in paternity testing experience in 66 cases). [1]Poggi, H., [1]Depix, M.S., [1]Romeo, E., [1]Goycoolea, M., [1]Rodríguez, L., [2]Santos, M. y [1]Foradori, A.C. [1]Serv. Laboratorios Clínicos, Facultad de Medicina y [2]Dpto. Bioquímica y Genética, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Los numerosos polimorfismos que presenta el ADN le confieren características genéticas únicas a cada individuo, utilizándose ampliamente para estudio de paternidad a través de técnicas como el análisis de polimorfismos con enzimas de restricción (RFLP). El objetivo de este trabajo es presentar un análisis de 66 casos de paternidad procesados en nuestro laboratorio. El ADN extraído a partir de sangre periférica fue analizado por RFLP (Lifecodes; *HaeIII*, *loci* D1S339, D2S44, D4S163, D6S132, D7S467, D10S28). Probabilidad de exclusión e índice de paternidad se obtuvieron por programas y base de datos proporcionados por el fabricante y para probabilidad de paternidad (PP) se asumió una probabilidad *a priori* de 0.5. Se excluyó paternidad en 22 casos (33.3%) utilizando a lo menos 3 sondas. En 44 casos (66.7%) se asignó paternidad con PP combinada >99.9%. Las sondas de mayor fuerza de exclusión en nuestra población fueron las utilizadas para los *loci* D1S339, D2S44 y D10S28 (PP>91% en promedio). En conclusión, el estudio de paternidad por RFLP es una técnica reproducible que permite excluir paternidad o asignarla con alta probabilidad. Aún así, es necesario contar con frecuencias alélicas de nuestra población para una base de datos propia.

P-37 ESTUDIO DE TRES LOCI HIPERVARIABLES EN UNA POBLACION HUMANA CHILENA (Study of three hypervariable loci in a Chilean Human Population). Novoa, R.[1]; Labbé C.[1]; Jorquera H.[2], Cifuentes L.[3]
1 Facultad de Medicina , U. de los Andes. 2 Unidad de Biología Molecular,Depto.de Laboratorios, Servicio Médico Legal y 3 Programa de Genética Humana,ICBM, Facultad de Medicina, U. de Chile

Los marcadores genéticos son una herramienta útil en estudios genético poblacionales y de individualización genética. Los marcadores de DNA amplificados mediante PCR, son altamente informativos y es importante contar con patrones genéticopoblacionales de estos loci para poder aplicarlos al estudio genético humano.
El objetivo de nuestro trabajo es describir los loci F13A01, FESFPS y vWA en una población mixta chilena y compararla con otras poblaciones humanas. Los tres loci estudiados corresponden a tres STR ubicados en diferentes cromosomas. Se estudiaron 393 individuos que concurrieron al Servicio Médico Legal durante el año 1998, para ser estudiados como parte de un proceso judicial. En todos los casos el DNA extraído a partir de sangre periférica, se amplificó y se separaron los fragmentos en gel de poliacrilamida .
Los tres loci demostraron ser altamente polimórficos con heterocigocidades observadas de 80.2, 73.3 y 84.5 % respectivamente. Los loci F13A01 y FESFPS se encontraron en equilibrio genético de Hardy-Weinberg, no así el locus vWA. Se subdividió la muestra estudiada según el origen de los apellidos de los individuos y según si eran estudiados por causas criminales o análisis de paternidad. Las frecuencias génicas de estas submuestras no diferiríeron entre sí ($p > 0.5$). Al comparar las frecuencias alélicas del total de la muestra chilena analizada con aquellas frecuencias de poblaciones caucásicas residentes en USA, éstas difirieron significativamente ($p < 0.05$), en cambio fueron similares a las descritas para la población hispánica residente en USA en los loci F13A01 y vWA. Las frecuencias génicas chilenas difirieron significativamente de las frecuencias descritas para hispánicos residentes en USA para el locus FESFPS.

P-38 MEDICIONES DENTARIAS EN CRANEOS DE ISLA DE PASCUA. (Dental measurements in Easter Island crania). Carlos Campusano(1), Basilio Lazo(1), M.C. Medina(1) y Silvia Quevedo(2). (1) Universidad de Valparaíso; (2) Museo de Historia Natural.

Se realizan mediciones de la morfología dentaria en restos arqueológicos humanos de Isla de Pascua, de antigüedad estimada con C^{14} desde 400 AD al 1680 AD. El propósito del presente estudio es aportar conocimientos acerca de las características biológicas y a la microevolución de la población autóctona pascuense.
Se examinaron 55 cráneos pertenecientes a la colección del museo de Historia Natural y que corresponden a los hallazgos arqueológicos de C. Smith y W. Mulloy (1955-1956). De este total, no se consideraron 16 de estos cráneos por pérdida postmortem de sus piezas dentarias. En los 39 restantes se midieron los diámetros mesiodistales de los primeros y segundos molares superiores e inferiores. Para ello se utilizó un calibrador heliosdial. Los valores se dan en milímetros (mm).
Los valores promedios encontrados fueron los siguientes:
a)En molares superiores: $M1 = 10{,}52$ y $M_2 = 10{,}00$
b)En molares inferiores : $M1 = 10{,}80$ y $M_2 = 10{,}96$
Estos valores permiten tener estimaciones de la morfología dentaria de poblaciones pretéritas de Isla de Pascua y a través de ellas estudiarlas filogenéticamente con la población pascuense actual.

P-39 EL CARIOTIPO DE LA ESPECIE ANUAL *Alstroemeria graminea* Phil. Y SU RELACION CON ESPECIES PERENNES DEL GENERO (The Karyotype of the annual species *Alstroemeria graminea* and its relation with some perennial species of the genus)

Palma - Rojas C., [1]P. Jara – Seguel, Depto. de Biología, Fac. Ciencias, Universidad de La Serena.

Alstroemeria graminea es probablemente la única especie anual del género y que pertenece al grupo de Alstroemerias con hojas no resupinadas, graminiformes y tamaños menores de 30 cm de altura. Se distribuye en las provincias de Antofagasta y Atacama. Fenotípicamente es diferente de *Alstroemeria magnifica* y *Alstroemeria pelegrina* que son perennes con hojas resupinadas no graminiformes. Estas especies nativas comparten un cariotipo 2n=16, similar a los descritos para otras tres especies perennes propias de Chile, lo cual permite asignarle un alto grado de conservantismo morfológico. Para aportar nuevos antecedentes que permitan contrastar esta hipótesis citotaxonómica, se describe el cariotipo de *Alstroemeria graminea* y se compara con los ya descritos para *A. magnifica* y *A.pelegrina*. Los cromosomas se obtuvieron de meristemas radiculares y foliares pretratados con antimitótico y teñidos con Feulgen. En fotomicrografías los cromosomas se midieron, recortaron y ordenaron y los valores de sus mediciones se presentan en gráficos de dispersión.
A. graminea presentó un cariotipo 2n= 16, constituído por dos pares m, 3 sm y 3 st. y constricciones secudarias en los pares 3, 4,5 y 6, similares en número y localización a las descritas en *A. magnifica* y *A.pelegrina*. Esto permite establecer que, al menos parcialmente, el conservantismo de este cariotipo se mantiene en una especie como *A. graminea* con una forma de vida muy distinta de la norma dentro del género.
Finaciamiento: Proyecto DIULS 120-2-26.
[1]Alumno Programa Magister en Ciencias Biológicas mención Ecología de Zonas Aridas, ULS.

P-40 ESTIMACION DE PARAMETROS GENETICOS PARA PIGMENTACION DEL MUSCULO EN SALMON COHO, *Oncorhynchus kisutch.* (Estimation of genetic parameters for muscle pigmentation in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*).

Araneda, C. y Neira, R. Patrocinio: Navarro, J. Programa Genética Humana ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Depto. Producción Animal, Facultad de Cs. Agronómicas, Universidad de Chile.

La coloración rojo-naranja del músculo es el principal criterio de calidad para comercializar salmónidos. Estos peces no sintetizan pigmentos carotenoides y los obtienen desde la dieta. En salmonicultura el costo de incorporar carotenoides sintéticos (astaxantina) es un 20% del costo total de alimentación. Existen evidencias que la coloración muscular en los salmónidos es un rasgo poligénico y que diferencias individuales en utilización de carotenoides son atribuibles a diferencias genéticas. Con el fin de conocer los niveles de variabilidad genética aditiva presente en rasgos de pigmentación del músculo en poblaciones de salmón coho, se analizaron 933 peces progenie de 95 hembras y 32 machos, obtenidos desde un apareamiento jerárquico. Los peces fueron divididos en dos grupos para dietas con mayor y menor aporte de astaxantina (55 ppm, N= 465; 35 ppm, N=468; respectivamente). Una vez sacrificados los peces fueron pesados, se obtuvo un corte estándar donde se midió visual e instrumentalmente la coloración. En la estimación de componentes de varianza se usó un modelo mixto, las heredabilidades se calcularon usando Máxima Verosimilitud Restringida (REML). Las heredabilidades para mediciones visuales fluctuaron entre 16 a 24% (escalas 11-18 y 1-8 Roche Colour Card, respectivamente). Mientras que, en mediciones instrumentales fluctuaron entre 11 a 18% (cromaticidad azul-amarillo y rojo-verde, respectivamente). Se discuten el efecto de la concentración de carotenoides sobre niveles de varianza genética, las estimaciones de heredabilidad en relación a otros estudios y a la factibilidad de incluir el rasgo en programas de mejora genética.
Financiado por FONDEF D98I1069 y BECA PG/27/99 Univ. de Chile.

P-41 INVESTIGACION DE LA DIVERSIDAD GENETICA EN LA REGION D-LOOP MITOCONDRIAL DE *Macruronus magellanicus* (Searching for genetic diversity in the D-loop mitochondrial region of *M. magellanicus*).

Valenzuela, M., Montoya, R., *Galleguillos, R. y *Narváez,C.G. Dpto. Biología Molecular, Fac. Ciencias Biológicas. *Dpto. Oceanología, Fac. Cs. Nat. y Oceanográficas. Universidad de Concepción. Patrocinio: Manuel E. Almonacid.

M. magellanicus (merluza de cola) se distribuye desde las costas de Valparaíso hasta el extremo austral de Chile. Las zonas de captura más importantes son el Golfo de Arauco y las costas de Aysén alcanzando a más de 300.000 toneladas anuales. Por la importancia económica de este recurso fue necesario investigar si se trataba de una ó mas unidades poblacionales. Con el objeto resolver esta interrogante, se sometió a estudio la región del D-loop mitocondrial. Se colectó 57 especímenes de Aysén y 54 del Golfo de Arauco, se extrajo el ADN desde el músculo esquelético, se amplificó por PCR la región D- loop y luego el fragmento amplificado fue digerido con diferentes enzimas de restricción.
Todas las muestras amplificaron un fragmento D-loop mitocondrial de 1610 pares de bases, salvo una de ellas que además amplificó otro fragmento de 570 pb. La digestión con las enzimas Ava II, Hae III, Hha I y Msp I no revelaron variaciones en las secuencias nucleotídicas; por el contrario, con la enzima Hinf I se detectaron 6 haplotipos cuyas frecuencias son las siguientes: Haplotipo 1= 1.8%, Haplotipo 2 = 9.2%, Haplotipo 3 = 78%, Haplotipo 4 = 9.2%, Haplotipo 5 = 0.9% y Haplotipo 6 = 0.9%. Considerando que las frecuencias obtenidas para las dos zonas bajo estudio son muy parecidas. Se concluye que *M. magellanicus* constituye una sola unidad poblacional en las costas del Sur de Chile.

P-42 BUSQUEDA DE LOS CROMOSOMAS SEXUALES EN SALMON COHO (*Oncorhynchus kisutch*) MEDIANTE FISH. (Search of sex chromosomes in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) using FISH).

De la Fuente, M., Vergara, N., Lam, N.,Iturra P. Programa de Genética Humana, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En Vertebrados, los cromosomas sexuales se habrían originado de un par cromosómico genética y morfológicamente similar, con el establecimiento de restricción de la recombinación genética en la región cromosómica que incluye a los determinantes del sexo. En salmónidos, existen especies con y sin cromosomas sexuales distinguibles citológicamente (trucha arcoiris y salmón coho respectivamente), constituyéndose en un modelo para estudiar la evolución de los heterocromosomas. En trucha, aislamos un marcador molecular (OmyP9) de 898 pb, localizado en los cromosomas sexuales de esta especie, que segrega asociado a los determinantes del sexo del cromosoma Y.
En esta comunicación mostramos los resultados obtenidos en la búsqueda de cromosomas sexuales en salmón coho. Basados en su proximidad evolutiva con trucha, utilizamos FISH para localizar OmyP9 en el cariotipo de salmón coho. Estudios previos indicaban que los partidores de OmyP9 amplifican en esta especie un fragmento de similar tamaño y sitios de restricción. Este fue secuenciado mostrando similitud de 82% con OmyP9. OmyP9 utilizado como sonda biotinilada mostró señal de hibridación preferentemente en la región medial del brazo largo de un par de cromosomas subtelocéntricos en el cariotipo de salmón coho. Los resultados sugieren que estos cromosomas corresponderían a los heterocromosomas de salmón coho, en un estado inicial de diferenciación.
Fondecyt 1970421

PANELES I
MISCELANEOS

P-43 **Tc45 ES CALRETICULINA, UNA PROTEINA DE *Trypanosoma cruzi* CON UBICACION CROMOSOMICA VARIABLE.** (Tc45 is Calreticulin, a *Trypanosoma cruzi* protein with variable chromosomal localization).

Colombo, A., Aguillón, J.C., Pérez, C., Ferreira, L., Molina, M.C., *Galindo, M., *Galanti, N., Billetta, R. y Ferreira, A. Programas de Inmunología y *Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Previamente, demostramos que IgG de ratones A.SW (*H-2*^{s}), inmunizados con tripomastigotes o epimastigotes de *T. cruzi*, y sueros de humanos infectados, reconocen un polipeptido de 45kD (Tc45) inmunogenéticamente restringido. Hemos clonado, secuenciado y expresado el gen de Tc45. A nivel de la secuencia aminoacídica deducida, se encontró un 98% de homología con una molécula similar a calreticulina presente en *T. cruzi*. También se detectó un 41% de homología con calreticulina de *Leishmania donovani* y de humanos. En el clon CL Brener y la cepa Tulahuén de *T. Cruzi*, el gen se localiza en 2 y 4 cromosomas, respectivamente. Calreticulina se detectó en varios clones de *T. cruzi*, en la cepa Tulahuén y también en *T. rangeli*, desplegando formas alternativas de 43 y 46kD. Dado que la calreticulina es una proteína intracelular, su habilidad para inducir inmunidad protectora puede estar sujeta a su expresión en amastigotes y a la presentación de epitopos T relevantes a linfocitos T citotóxicos. En *T. cruzi*, calreticulina presenta propiedades del tipo lectinas, uniéndose a oligosacáridos monoglucosilados, presentes en proteínas. En humanos puede actuar como molécula chaperona, regulador de integrinas, receptor de C1q, autoantígeno Ro/SS-A, entre otras funciones. La identificación de Tc45 como calreticulina permitirá estudiar el papel que ésta pueda tener en la modulación de la respuesta inmune antiparasitaria y en el desarrollo de autoinmunidad.
Financiamiento: FONDECYT 1970878, SAREC/SIDA Sweden; UNESCO/RELACIN.

P-44 **ANALISIS INMUNO E HISTOQUIMICO SOBRE LA MICROCIRCULACION EN NERVIOS IRRADIADOS CON RAYOS LASER.** (Immunological and Histochemical analysis on the microcirculation in nerve with Laser radiation).

Molina, B., Matamala, F., Silva, H., Henríquez, J. & Vasconcellos, A. Facultad de Medicina . Depto. Ciencias Básicas. Universidad de La Frontera, Casilla 54 –D, Temuco.

La aplicación del rayo laser en el uso clínico representa una técnica muy valiosa para el tratamiento de lesiones. Su acción terapéutica se efectua a través de un aumento de la actividad metabólica celular, la cual disminuye el dolor, resuelve el proceso inflamatorio y ayuda a la reparación tisular.
Este estudio fue diseñado para analizar la acción del Laser a nivel de microvasos de nervios periféricos. A un grupo de 10 Conejos se irradió transcutáneamente el nervio isquiático derecho con una energía de 10 joule/ cm2, por 9 minutos durante 10 días. Como control se utilizó el nervio isquiatico izquierdo. Los animales fueron sacrificados, fijados los nervios en formol-tamponada en PBS pH 7.2 e incluidos en Paraplast. Cortes de ambos nervios fueron procesados para realizar la detección de microvasos mediante peroxidasa y Diaminobenzidina (DAB). A cortes vecinos se utilizó el sistema estreptavidina-biotina-Peroxidasa utilizando como anticuerpo primario CD-31 (DAKO) antiendoteliocitos.
Los análisis imuno e histoquímicos mostraron un aumento apreciable de la visualización de capilares en nervios irradiados en comparación a los no irradiados.
Podemos concluir que la aplicación de rayos Laser de uso clínico en nervios periféricos aumenta la irrigación del área estimulada.
Proyecto DIUFRO N° 9817

P-45 **TRANSDUCCION DE SEÑALES PARA LA SINTESIS DE PR Y DE ESCOPARONA EN *Citrus limon*** (Signal transduction for the synthesis of PR and Scoparone in *Citrus limon*)

Alvarez, R. y Finkelstein, J. Dep. Bioq. Biol. Mol. Fac. Cs. Quím. Farm., U. De Chile.
E-mail: [1]perez@abello.dic.uchile.cl (Patrocinio: Daniela Seelenfreund)

Las plántulas de limonero inoculadas con *A. alternata* inducen la vía fenilpropanoide para la síntesis de la fitoalexina escoparona, y proteínas relacionadas con patogénesis (PR). Se desconocen cuales elementos participan en la transducción de la señal.
Las plántulas de limonero dañadas fueron pre-tratadas con Verapamilo (bloqueador de canales de calcio), o con EGTA (quelante de calcio), o con TFP (antagonista de calmodulina, CaM), o con estaurosporina (inhibidor de S/T quinasas), o con lavendusrtina A (inhibidor de Y quinasas); luego se inocularon con el hongo. Las fitoalexinas se extrajeron con acetato de etilo y se analizaron por TLC. Las PR se separaron por PAGE-nativo, incubándose los geles con glicolquitina o laminarina.
La síntesis *de novo* de escoparona, disminuyó en las plántulas pre-tratadas con estaurosporina o con lavendustina A, y fue bloqueada por Verapamilo y por EGTA. La expresión de PR no fue alterada por la presencia de ninguno de los compuestos usados. Sin embargo, la expresión constitutiva de glucanasas fue modificada por estaurosporina y por lavendustina A.
Los resultados sugieren que la síntesis *de novo* de escoparona, requiere de calcio, canales de calcio, CaM y proteínas quinasas, elementos que no serían necesarios para la expresión de PR.
Financiamiento FONDECYT 1970532.

P-46 **GENERACION DE VECTORES ADENOVIRALES PORTADORES DE UN GEN PROTECTOR CONTRA EL ALCOHOLISMO.** (Generation of adenoviral vectors containing an alcoholism-protective gene).

Karahanian, E., Zamorano, P. & Israel, Y. Laboratorio de Farmacoterapia Génica, Fac. Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La deshidrogenasa aldehídica (ALDH-2) hepática oxida al acetaldehído, el primer producto en el metabolismo del etanol. Una pequeña proporción de la población mundial posee una mutación puntual en el gen *ALDH2*, produciendo una variante dominante inactiva de esta enzima. Estos individuos ven disminuida su capacidad de consumir etanol en grandes cantidades, ya que la acumulación del acetaldehído les produce efectos adversos. Nosotros postulamos que la transducción hepática del alelo dominante negativo de *ALDH2* (*ALDH2*-2) a individuos alcohólicos les producirá un rechazo hacia el consumo de alcohol. En estudios preclínicos iniciales, la administración de este gen se realizará utilizando vectores adenovirales que presentan un marcado tropismo hepático. Para producir dichos vectores, se insertó el cDNA correspondiente a *ALDH2*-2 entre el promotor CMV y el sitio de poliadenilación de SV40 del plásmido pACCMV. Se generaron adenovirus deficientes en la replicación mediante cotransfección de células HEK-293 con pACCMV-ALDH2-2 y con pJM17 que contiene el genoma viral. En estas células se produce un evento de recombinación homóloga entre ambos plásmidos, incorporándose la secuencia de *ALDH2*-2 en las partículas virales producidas. Posteriormente, se realizarán experimentos *in vivo* en ratas alcohólicas, con los cuales se espera observar un rechazo al consumo de alcohol por parte de estos animales.

P-47 MEJORAMIENTO MOLECULAR PARA CALIDAD PANADERA EN TRIGO. I. GEN HMWx5 (Molecular breeding in wheat for baking quality.I. Gene HMWx5).

Zuñiga, J.[1]; Jobet F., C.[1] y Campos De Q., H.[1,2]. [1] INIA-Carillanca, Casilla 58-D, Temuco, CHILE [2]hcampos@carillanca.inia.cl
Patrocinante: Profesor Edmundo Acevedo, Universidad de Chile

La calidad panadera es un elemento fundamental para la comercialización e industrialización del trigo, y se asocia con componentes proteicos en general y las proteínas gluteninas HMW en particular. La selección convencional de trigos de calidad recurre a procedimientos reológicos e identificación de proteínas HMW mediante electroforesis PAGE. El presente estudio desarrolla un sistema "allele-specific PCR" de selección molecular del gen HMWx5, asociado con calidad panadera. Partidores basados en secuencias disponibles en GENEBANK situados en el extremo 5' y parte del promotor del gen HMWx5 fueron utilizados para diferenciarlo de su alelo HMWx2 mediante PCR. La similitud nucleotidica entre ambos genes alcanza a 98%. Una vez optimizadas las variables PCR una banda de 440 pb fue amplificada en los genotipos HMWx5 cuyo tamaño corresponde al anticipado por la información de secuencias, mientras que los genotipos HMWx2 no amplificaron amplicon alguno. El sistema se validó en un amplio (120) grupo de genotipos, permitiendo la rápida e inequívoca identificación de aquellos portadores del gen HMWx5. El procedimiento permite procesar un gran número de muestras diariamente. El desarrollo de éste y otros sistemas de selección molecular permitirá el establecimiento de sistemas de selección de trigos de calidad panadera rápidos, efectivos y focalizados.
Agradecimientos: Investigación financiada por proyecto FONDEF D98I1074

P-48 DETERMINACION DE LOS NIVELES DEL mRNA DE DESHIDROGENASA ALDEHIDICA 2 EN UN TEJIDO CON mRNAs DE ALTA HOMOLOGIA: (Determination of mRNA levels of aldehyde dehydrogenase-2 in a tissue with highly homologous mRNAs).

Torres V. Laboratorio de Farmacoterapia Génica, Dpto. de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Una enzima crítica en el metabolismo del acetaldehído en humanos es la deshidrogenasa aldehídica-2 (ALDH2). La inactivación de esta enzima produce aversión al alcohol. Las personas con una mutación inactivante en el gen *ALDH2* están protegidas contra el alcoholismo. Los fundamentos para tratar el alcoholismo mediante terapia génica incluyen el desarrollo de oligonucleótidos (i) de antisentido y (ii) formadores de triple hélice dirigidos al mRNA y al gen de la ALDH2, respectivamente. Para la evaluación del posible uso clínico de estas terapias se hace imprescindible determinar los niveles del mRNA de la ALDH2. En el hígado existen varias isoenzimas con alta homología a la ALDH2. Para poder determinar los niveles del mRNA de ALDH2 es necesario diferenciarlo del mRNA de estas otras isoenzimas. En este trabajo comparamos dos métodos que miden los niveles de mRNA: Northern blot y RT-PCR cuantitativa. Para Northern se utilizó una sonda dirigida hacia la región menos conservada para la isoenzima de interés. Para RT-PCR cuantitativa hemos usado partidores específicos para ALDH2 y un estándar interno competitivo. Se discuten las ventajas y desventajas de estas dos metodologías en la determinación de los niveles del mRNA de ALDH2.
(Financiado: Fondecyt 1981047-98 y Cátedra Presidente de la República 1997)(Y.I).

P-49 EXPRESION DE LA MOLECULA INDUCTORA DE APOPTOSIS LIGANDO DE FAS EN UTERO Y OVIDUCTO DE RATON. (Expression of the apoptosis-inducing Fas Ligand in mouse uterus and oviduct).

Varela, L., Figueroa, C., Cárdenas, H., Imarai, M. Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Química y Biología. Universidad de Santiago de Chile.

La apoptosis inducida por la interacción Fas-FasL es uno de los mecanismos responsables de la muerte de células inflamatorias en tejidos denominados inmunológicamente privilegiados. Estos órganos expresan constitutivamente FasL el cual interactúa con el receptor Fas presente en linfocitos activados induciendo la muerte de estas células por apoptosis. De esta manera se evita el desarrollo de una respuesta inmune local masiva que puede ser dañina para la función normal de estos órganos. Nosotros planteamos que la respuesta inmune en el tracto reproductor femenino utiliza este mecanismo para controlar el desarrollo de una respuesta inflamatoria que puede conducir a infertilidad. En este estudio examinamos la presencia de FasL en el tracto reproductor de ratonas mediante análisis por microscopía confocal utilizando un anticuerpo específico. Se encontró que FasL se expresa en el epitelio y estroma de los oviductos y útero. También se detectó la presencia del RNA mensajero de FasL en estos órganos. El análisis de extractos proteicos de útero y oviductos mediante Western-blot, reveló la existencia de proteínas alrededor de 40, 60 y 90 kD. Células epiteliales en cultivo derivadas de estos órganos expresan FasL e inducen apoptosis linfocitaria *in vitro*. Estos resultados sugieren que la apoptosis linfocitaria producida por la interacción Fas-FasL podría ser uno de los mecanismos de regulación de la respuesta inmune local en el tracto reproductor femenino.
Financiado por DICYT-USACH

PANELES II
ECOLOGIA Y ZOOLOGIA

P-50 **INSECTOS EN EL BORDE: EFECTOS DE LA FRAGMENTACION DE HABITAT SOBRE EL ENSAMBLE DE COLEOPTEROS DEL BOSQUE RELICTO DE FRAY JORGE.** (Insects at the edge: The effect of forest fragmentation upon the beetle assemblage at the relict forest of Fray Jorge.)
Barbosa O. & Marquet P. Depto. Ecología, P. Universidad Católica de Chile.

Actualmente se reconoce a la fragmentación de hábitat como uno de los componentes principales asociados a la extinción de especies. La fragmentación de hábitat implica pérdida de hábitat original, aumento del aislamiento y degradación del hábitat remanente por efectos de borde. Este último en especial ha sido poco estudiado en bosques templados de Sudamérica y menos aún en insectos. En este estudio se caracteriza el efecto borde sobre la distribución, diversidad y abundancia de coleópteros en el bosque relicto de Fray Jorge, IV región. Para esto se pusieron 30 trampas barber por fragmento de diferente tamaño, (15.6; 3; 0.6 ha) distribuidas cada 5 metros en transectos perpendiculares al borde, desde la matriz hacia el centro del parche; por cuatro estaciones. Los resultados muestran que existe un efecto significativo de la estación, tamaño del fragmento y posición (dentro y fuera) del parche, sobre la abundancia y diversidad. Además, para tamaños de fragmentos mayores, existen diferencias en la distribución de la abundancia y diversidad. En general, los resultados muestran que el efecto borde es significativamente mayor en fragmentos de pequeño tamaño y que los cambios en la diversidad y abundancia con la distancia son función del tamaño del parche. FONDECYT 1990144.

P-51 **TOLERANCIA AL COBRE DE ESPECIES VEGETALES PRESENTES EN EL AREA DE INFLUENCIA DE UNA FUNDICION DE COBRE** (Copper Tolerance of Plant Species Growing in a Copper Smelter Hinterland)
Ginocchio, R1, Macnair M.2 & Baker A.J.M. 3 . 1Pontificia Universidad Católica de Chile. 2University of Exeter, Exter, U.K. 3University of Sheffield, Sheffield, U.K.

En Chile, son escasos los estudios sobre los efectos de la contaminación generada por fundiciones de cobre en la distribución y abundancia de especies vegetales y son nulos los estudios en los que se pruebe la selección de ecotipos tolerantes. El objetivo de este estudio fue probar si los cambios observados en la distribución y abundancia de especies vegetales presentes en la zona de influencia de la fundición de cobre de Ventanas pueden ser explicados por diferencias en la resistencia al cobre de las plantas afectadas. Se probó resistencia al cobre en plántulas de *Oenothera picensis* y *Eschscholzia californica* (muy abundantes en áreas contaminadas), *Rhodophiala advena*, *Noticastrum sericeum* y *Convolvulus chilensis* (igualmente abundantes en toda el área contaminada), *Baccharis linearis* y *Solidago chilensis* (más abundantes en áreas menos contaminadas). Se creció las plántulas en soluciones nutritivas Hoagland, aereadas y enriquecidas con 0.0 (control), 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 y 10.0 ppm de sulfato de cobre. Después de 10 días se evaluó el crecimiento radical (longitud). Plántulas de dos especies resistentes a altas concentraciones de cobre en el suelo, *Eschscholzia caespitosa* y *Mimulus guttatus* colectadas en Copperopolis (California, U.S.A.) fueron utilizadas como especies de comparación. Los resultados indicaron que el crecimiento radical fue significativamente inhibido en todas las especies provenientes de Ventanas a todas las concentraciones de cobre utilizadas, con excepción del control. El crecimiento radical sólo fue inhibido significativamente en las especies de Copperopolis a concentraciones mayores de 1.0 ppm.
Proyecto FONDECYT 2950085 y Fundación Andes.

P. 52 **CONSECUENCIAS DE LA HERBIVORIA SOBRE LA SOBREVIVENCIA FOLIAR DE *Nothofagus alpina* A DIFERENTES NIVELES DE ANALISIS.** (Consequences of the herbivory on leaf survival of *Nothofagus alpina* at differents levels of analysis)
Claros, S. & I. Serey. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago.

El efecto de la herbivoría sobre la sobrevivencia foliar puede ser estudiado a distintos niveles jerárquicos. Un nivel es centrarse en el conjunto de hojas que forman el follaje y realizar el análisis a nivel de la especie. Otro nivel es focalizar el estudio en función de los individuos que conforman la población de árboles. Nosotros evaluaremos el efecto de la herbivoría en la sobrevivencia foliar en ambos niveles.
Se seleccionaron 20 árboles de *Nothofagus alpina*, en Alto Bío-Bío. Se hicieron dos tratamientos por cada árbol: con insecticida y sin insecticida. Se registró el tiempo de sobrevivencia de cada hoja desde su despliegue,cada 15 días.
A nivel de especie no hay efecto significativo de la herbivoría en la sobrevivencia foliar.A nivel individual de los árboles la herbivoría afecta de dos formas: en algunos árboles aumenta y en otros disminuye la sobrevivencia foliar. Otro grupo de árboles no son afectados. Se concluye que a nivel de los árboles individuales, la herbivoría genera diferencias en la sobrevivencia foliar que no son observables a nivel de especie. Así, el mismo proceso puede llevar a diferentes conclusiones según el nivel de análisis que se considere.
Beca PG/026/97 Universidad de Chile.Proyecto CEE CI-CT93-0042T, CONICYT. Programa Bosques Nativos,Universidad de Chile.

P-53 **TAMAÑO DE SEMILLAS EN *Cryptocarya alba* (LAURACEAE): VARIACION A ESCALA LOCAL Y GEOGRAFICA,** (Seed size in *Cryptocarya alba*: variation at local and geographic scale).
R. O. Bustamante, J.A. Simonetti & M. Sepúlveda. (Facultad de Ciencias. Universidad de Chile).

El tamaño de semillas producido por una planta es modulado por el ambiente. Si éste es desfavorable las plantas producirán pocas semillas de tamaño grande. Si es favorable, las semillas serán numerosas pero de pequeño tamaño. Se trabajó con *Cryptocarya alba* un árbol de hábitats mésicos y de amplia distribución en Chile (31 a 39° lat. S). Se contrastó la siguientes predicción: poblaciones ubicadas en ambientes secos producirán semillas de mayor tamaño que poblaciones ubicadas en ambientes más húmedos. Esta predicción se contrastó a escala local: población Ocoa (seco) vs población Granizo (húmedo) y a escala geográfica: 12 poblaciones ubicadas entre los 31 y 38° latitud S. El tamaño de las semillas difiere significativamente entre poblaciones. Las poblaciones ubicadas entre los 31 y 33° no difieren de las poblaciones ubicadas entre los 35 y 38°. Las poblaciones ubicadas entre los 33 y 34ª difieren significativamente del resto. No existen diferencias entre las poblaciones de Ocoa y Granizo. Así se rechaza la predicción de diferencias en el tamaño de semillas a escala local. A escala geográfica el patrón encontrado es más complejo pues las semillas de mayor tamaño no se encuentran en el Norte de la distribución de la especie según lo esperado (condición más desfavorable) sino que en la zona central del país.
FONDECYT 1980750

P-54 MICROHONGOS ASOCIADOS CON LA DESCOMPOSICION DE HOJARASCA EN BOSQUE DE *Nothofagus pumilio* (Microfungi associated with the litter decomposition in *Nothofagus pumilio* forest). Leiva,S.[1], Valenzuela, E.[1], Godoy, R[2]. [1]Inst. Microbiología, [2]Inst. Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

La hojarasca constituye un importante aporte de carbono al ecosistema. Los eventos fenológicos que gobiernan la caída de las hojas en especies caducifolias en la cordillera andina están influenciados por el microclima. Estudios realizados durante 3 años en un bosque de *N. pumilio* ubicado en una microcuenca del Valle de Antillanca, Parque Nacional Puyehue (41° S, 1200 m.s.n.m), indican una clara estacionalidad de la hojarasca, con aportes cercanos a 2000 kg/ha/año y una velocidad de descomposición (k) de 0,13.
Bajo estas condiciones se espera que los procesos de descomposición y posterior mineralización de la hojarasca de *N. pumilio* en esta área de estudio presentarían un carácter estacional, asociado a cambios de comunidades fúngicas específicas, con potenciales enzimáticos selectivos.
Mediante el método de las diluciones se estudió la variación de las comunidades microfúngicas presentes en la hojarasca de *N. pumilio* incubadas en litterbags y mediante ensayo *in vitro* se determinaron sus potenciales enzimáticos. Se identificaron un total de 74 taxa. La micoflora del primer trimestre estuvo compuesta por 33 especies, que fueron reemplazadas gradualmente en diversas fases sucesionales. Las actividades celulolíticas y amilolíticas predominaron y representaron el 89,6 y 69,9 % de los aislamientos, respectivamente.
Se discuten los cambios en los potenciales enzimáticos y la dinámica de la descomposición, en relación con diferentes fracciones orgánicas de la hojarasca (materiales solubles, celulosa y lignina).
Proyecto Fondecyt 1970707

P-55 POLIMORFISMO GENETICO EN INSECTOS ESPECIFICOS DE UN ARBUSTO EUFORBIACEO. (Genetic polymorphism of insects specific to an euphorbiaceous shrub). Silva[1], A., Martínez[1], P., Bellsey[2], R., Elgueta[3], M. y Martínez[1], E.A. [1]:Departamento de ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. eemartin@bio.puc.cl, [2]: Interdisciplinary Program in Genetics, Universidad de Arizona, [3]:Museo Nacional de Historia Natural, Chile.

Colliguaja odorifera, un arbusto euforbiáceo del matorral chileno, es colonizado específicamente por *Exurus coliguallae*, microhimenóptero formador de agallas en las inflorescencias y por un hemíptero saltador. Las poblaciones del arbusto se distribuyen en los cordones precordilleranos costeros y andinos, separados por el valle central.
Mediante amplificación aleatoria de ADN genómico (RAPD-PCR), usando partidores arbitrarios, se evaluó el polimorfismo genético de los insectos dentro y entre localidades extremas de la distribución longitudinal.
Aunque la separación de ambas cordilleras y la baja movilidad de las infecciones sugiere un alto grado de estructuración genética, los resultados muestran un bajo grado de polimorfismo, al menos para los microhimenópteros. Los hemípteros por el contrario presentan mayor polimorfismo. Tal diferencia puede deberse al tipo de ciclo de vida, diferente en ambos insectos.
Financ.: DIPUC 98/02E, Fondecyt 1990235, Fundación Andes.

P.56 VARIACION FENOTIPICA Y GENETICA EN EL PIURE *Pyura praeputialis* EN LA BAHIA DE ANTOFAGASTA, CHILE. (Phenotypic and genetic variation in the cunjevoi *Pyura praeputialis* at the Bay of Antofagasta, Chile). Astorga M[1], Guiñez R[2], Castilla JC[2], Ortíz JC[1]. [1]Dpto Zoología, Fac. de Cs. Nat. y Oceanográficas, Universidad de Concepción.. Concepción. [2]Departamento de Ecología, P. Universidad Católica de Chile.

En este trabajo se intenta discriminar y describir en términos morfológicos y genéticos, a dos morfotipos del piure, *Pyura praeputialis,* en la Bahía de Antofagasta. Un total de 151 individuos colectados en el intermareal rocoso inferior de 3 localidades dentro de la Bahía fueron clasificados de acuerdo a su morfotipo, medidos para 3 variables de peso y 5 variables morfométricas; y caracterizados genéticamente sobre la base de 3 loci aloenzimáticos polimórficos, MDH-1, PGM-1 e IDH-1. Adicionalmente, se consideró el tipo de agregamiento (solitarios o agregados) de los individuos colectados.
Las variables morfométricas fueron significativamente diferentes entre morfotipos y entre tipo de agregamiento (MANOVA, $P < 0.0001$). Sin embargo, la mayoría de las variables de peso o morfométricas no mostraron diferencias significativas entre las localidades (MANOVA, $P > 0.06$). Las frecuencias alélicas para los 3 loci fueron homogéneas entre morfotipos y tipo de agregación ($P > 0,10$), pero heterogéneas marginalmente entre localidades para el locus PGM-1 ($P < 0,05$). Se discute los resultados en relación a la posible plasticidad fenotípica de los individuos y morfotipos en respuesta a ambientes expuestos a intensidades variables del impacto del oleaje.
Financiado por Proyectos Cátedra Presidencial de JC Castilla y Min. Escondida Ltda.

P-57 FORRAJEO Y PREFERENCIAS BASADAS EN GASTO Y CONSUMO DE ENERGIA EN PICAFLORES. (Foraging and preferences based on hummingbirds energy intake and expenditure). Ma. José Fernández y M. Victoria López-Calleja. Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

¿Cómo realizan sus decisiones de forrajeo los picaflores y como estas decisiones están influenciadas por los costos energéticos asociados al forrajeo y al contenido de energía del alimento? En el picaflor chico (*Sephanoides sephanoides*), a través de un diseño multifactorial estudiamos las preferencias por dos ítemes tróficos de distinto contenido energético (soluciones de sacarosa 0,5 M = 2,9 kJ/ ml y 0,75 M = 4,3 kJ/ml) y con costos energéticos de forrajeo altos y bajos (sin y con percha). Además se midieron los costos energéticos de tales actividades. En un total de 16 individuos machos se observó que: 1)Si los retornos de energía son altos (alta calidad energética del alimento) los animales no minimizan los gastos. 2) Si los retornos de energía son bajos (baja calidad energética del alimento) los animales minimizan los gastos y prefieren forrajear perchados, minimizando los gastos energéticos asociados a la actividad de alimentación. Se discuten las situaciones intermedias y se analizan los resultados en el contexto de la energética del forrajeo y las decisiones asociadas.
Financiado por Fondecyt 1980959 a F.Bozinovic

P-58 **ENZIMAS DIGESTIVAS EN UN AVE HERBIVORA PEQUEÑA, *Phytotoma rara*** (Digestive enzymes of a small avian herbivore, *Phytotoma rara*) Meynard, C., Sabat, P.[1], López-Calleja, M.V., Bozinovic, F. Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, y [1]Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Patrocinio: Francisco Bozinovic.

Se estudió la actividad de tres enzimas digestivas a lo largo del intestino delgado de *Phytotoma rara*, especie que se encuentra entre las aves herbívoras más pequeñas. Las enzimas fueron utilizadas como indicadores de la capacidad de asimilación de carbohidratos en el caso de las disacaridasas (sacarasa y maltasa), y como indicadores de la capacidad de digestión de proteínas en el caso de la oligopeptidasa (N-aminopeptidasa). El largo del intestino delgado fue 44.6% más corto de lo esperado en base a la masa corporal de los individuos. Las actividades de maltasa, sacarasa y N-aminopeptidasa no presentaron diferencias significativas en el primer 80% de la porción proximal del intestino, y están probablemente vinculadas a la alta concentración en carbohidratos y baja concentración en proteínas de la dieta herbívora de *Phytotoma rara*. La alta hidrólisis enzimática, prácticamente constante a lo largo del intestino, podría estar compensando la pobreza del material vegetal, y permitiendo así su explotación por parte de *P. rara*, sin sacrificar la eficiencia digestiva o el balance nutricional.
FONDECYT 1980959.

P-59 **HABITOS ALIMENTARIOS DE *Chinchilla lanigera*** (Food habits of *Chinchilla lanigera*) Cortés, A., y Miranda, E., Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena.

Chinchilla lanigera, es un roedor endémico de Chile, su actual distribución está restringida entre Vallenar e Illapel, su mayor abundancia se encuentra en Aucó-Illapel (IV Región). Los hábitos alimentarios es un rasgo importante dentro de la ecología trófica, que debiera tenerse presente en los programas de protección y conservación, particularmente en el caso de chinchilla considerada en "Peligro de Extinción". En este estudio se analizan sus hábitos alimentarios, a partir de fecas frescas colectadas en la RN Las Chinchillas, durante dos períodos anuales contrastantes en las precipitaciones (año lluvioso = 242 mm, 1992 y año seco = 123 mm, 1993). Los resultados indican que: 1) En año lluvioso, presentó una mayor diversidad dietaria, consumiendo 21 ítemes de plantas, mientras que en período seco sólo consumió 11 ítemes. 2) En ambos períodos anuales el ítem mayormente consumido fue la herbácea *Nassella chilensis*. 3) En invierno y verano (intranual) mostró alto grado de sobreposición dietaria, en cambio para estaciones iguales (interanual), la sobreposición fue baja. De acuerdo a los resultados, concluimos que *C. lanigera* es un herbívoro, con una estrategia alimentaria típica de animales generalistas y oportunistas, condición trófica que favorecería su adecuación a los ambientes áridos del norte de Chile central.
Financiado: FONDECYT 1981122 y DIULS 120-2-81.

P-60 **INDICADORES DE ESTRES EN CHINCOLES URBANOS** (Stress indications in urban rufous-collared sparrows). Rosenmann, M., Ruiz, G., Novoa, F. y Arredondo, A. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, y Depto. de Biología, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación.

El síndrome inespecífico de estrés, tiene características compartidas por todos los vertebrados. En aves y mamíferos la respuesta primaria a un agente estresante es rápida, y se manifiesta básicamente por aumentos en presión arterial, glucocorticoides, glicemia, frecuencia respiratoria y tono muscular. El aumento de la liberación de corticosteroides origina la respuesta secundaria, que es más lenta (horas a días), y está generalmente asociada a estrés prolongado. Esta respuesta se evidencia por aumento de heterófilos (H), disminución de linfocitos (L), inmunodepresión y disminución de peso corporal. La magnitud de estos cambios depende de la intensidad y persistencia del agente estresante. Varias especies de aves silvestres han sido incorporadas fortuitamente al ambiente urbano. Entre ellas, *Zonotrichia capensis*, especie territorial, que es frecuente en jardines y parques de ciudad. Sin embargo, hemos encontrado que con niveles variables de glicemia, los chincoles urbanos tienen menor peso corporal, mayor proporción de heterófilos, menor proporción de linfocitos y un mayor índice (H/L), que los rurales. Separadamente, y más aun en conjunto, estos indicadores revelan manifestaciones típicas de estrés secundario en los urbanos. La naturaleza de los factores que aparecen como más probables de actuar como agentes estresantes puede ser inferida de correlaciones entre los factores comunes y los no compartidos por las distintas poblaciones.
PROYECTO FONDECYT 199 0708

P-61 **RESPUESTAS INDUCIDAS EN PLANTULAS DE TRIGO POR HERBIVORIA DEL AFIDO *Rhopalosiphum padi* AFECTAN SU DISTRIBUCION EN LA PLANTA** (Within-plant distribution of the aphid *Rhopalosiphum padi* on wheat seedlings is affected by induced responses). Gianoli, E. Dpto. Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

El áfido *Rhopalosiphum padi* se localiza preferentemente en el tallo basal y las hojas inferiores de plántulas de gramíneas. En este trabajo se muestra que la distribución de *R. padi* en plántulas de trigo es afectada por respuestas inducidas en las plantas por herbivoría de este áfido. En primer lugar, se determinó que la calidad nutricional de la planta (expresada en la fecundidad de los áfidos) no fue diferente en el tallo basal y en la tercera hoja (hoja superior) de una plántula. Posteriormente se evaluó el efecto sobre el desempeño del áfido de la infestación previa del tejido vegetal, tanto en el tallo basal como en la tercera hoja. Se observó que la infestación previa en el tallo no produce un efecto significativo sobre la fecundidad de áfidos ubicados en él, pero sí disminuye la fecundidad de áfidos ubicados en la tercera hoja. En contraste, la infestación previa en esta hoja produce una respuesta inducida local, i.e. menor fecundidad en áfidos desarrollándose en ella, pero no afecta a aquéllos ubicados en el tallo basal. Evidencia de respuestas fitoquímicas (inducción de ácidos hidroxámicos) en este mismo sistema áfido-planta corroboran este patrón.
Agradecimiento: Cátedra Presidencial a H.M. Niemeyer

P-62 ALTERACION EN EL USO DE MICROHABITAT DEL AFIDO *Acyrtosiphon pisum* PARASITADO POR EL MICROHIMENOPTERO *Aphidius ervi*. (Change in microhabitat use of *Acyrtosiphon pisum* parasitized by *Aphidius ervi*).

Guerra, M.[1], Fuentes-Contreras, E.[2], Niemeyer, H. M.[1] (1) Laboratorio de Química Ecológica, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (2) Departamento de Producción Agrícola, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca. Patrocinio: Fuentes-Contreras, E.

La elección de microhábitat en insectos de escasa movilidad condiciona su desempeño biológico al determinar la calidad del alimento y las condiciones bióticas y abióticas a las que está expuesto. *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae) es parasitado en alfalfa por *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae) y por hongos entomopatógenos. Se desconoce la existencia de alteraciones en la elección de microhábitat por parasitismo en *A. pisum*.
Se determinó en terreno la distribución de *A. pisum* sano y parasitado por *A. ervi* y por hongos entomopatógenos, en distintos microhábitats de plantas de alfalfa. Se encontró que los áfidos sanos e infectados por hongos se ubican preferentemente en la cara inferior de las hojas o en brotes, mientras que las momias (áfidos parasitados por *A. ervi*) se encuentran principalmente en la cara superior de las hojas.
Experimentos de campo mostraron mayor éxito de emergencia en parasitoides *A. ervi* a partir de momias colocadas en la cara superior de las hojas, particularmente en ausencia de mielcilla de áfidos.
Se establece así una distribución diferencial de *A. pisum* respecto al parasitismo por *A. ervi*, así como el valor adaptativo del cambio conductual para el parasitoide.
Agradecimientos: LANBIO, Cátedra Presidencial en Ciencias a Hermann M. Niemeyer.

P-63 PATRON DE ESPECIALIZACION EN UN INSECTO FITOFAGO: ¿VARIACION AMBIENTAL O GENETICA? (Pattern of specialization in a phytophagous insect: or genetic variation?)

Paula P. Caballero, Ramírez, C.C., Niemeyer H. M. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, U. de Chile. (Patrocinio: Ramírez, C.C.)

Como la mayoría de los insectos fitófagos, los áfidos presentan un importante grado de especialización, lo que normalmente se relaciona con un desempeño mayor en el hospedero en el cual están especializados (hospedero preferido) respecto a uno alternativo. Sin embargo, existen evidencias de cambios en el uso de hospederos alternativos luego de experiencia de desarrollo ontogenético en ellos, por lo que se ha postulado a la experiencia como uno de los mecanismos capaces de inducir especialización. En este trabajo se estudió el efecto de la experiencia en un hospedero alternativo sobre el patrón de especialización de un áfido de cereales. Se evaluó el desempeño de 23 clones, identificados mediante RAPD-PCR, de *Rhopalosiphum maidis* F. sobre *Sorghum halepense* L (hospedero preferido) y *Triticum durum* L. (hospedero alternativo), antes y después de experiencia durante 20 generaciones en *T. durum*. Antes del periodo de experiencia en trigo se observó un compromiso en el desempeño sobre ambos hospederos. Sólo 8 de los 24 clones lograron sobrevivir 20 generaciones en *T. durum*. Después de este período el desempeño aumentó significativamente en *S. halepense* y se mantuvo constante en *T. durum*, aún cuando mostró una tendencia a disminuir. Estos resultados sugieren que el patrón de uso de recurso de *R. maidis* responde mayormente a la variación genética, en tanto que la componente ambiental juega preferentemente un rol selectivo.
Financiamiento: Cátedra Presidencial a HMN.

P-64 REEVALUACION SISTEMATICA DE *Diplomystes sp* (Systematics reevaluation of *Diplomystes sp*).

Cortez, M.S.,Contreras M. Laboratorio de Limnología. Departamento de Ciencias Ecológicas. Universidad de Chile. Casilla 653, Santiago, Chile.

La familia *Diplomystidae* es considerada como el grupo más primitivo dentro del Orden Siluriformes. Esta familia contiene dos géneros: *Diplomystes* y *Olivaichthys* los cuales son endémicos de Chile y Argentina, respectivamente. Arratia, a través de un trabajo descriptivo del género *Diplomystes*, basado en un análisis merístico, morfométrico y filogénetico, sugiere la existencia de una nueva especie *Diplomystes sp*. En este trabajo se presentan evidencias morfométricas y cariotípicas que apoyan la hipótesis de un proceso de diferenciación en *D. sp*, utilizando como referente comparativo a *Diplomystes nahuelbutaensis*, especie que presenta una distribución geográfica adyacente respecto a *D. sp*.
La evidencia morfométrica mostró que existieron diferencias en siete de los quince caracteres entre ambas especies. La comparación cariotípica evidenció que el número diploide de cromosomas (2n = 56), la posición del centrómero y el número fundamental (NF= 96) se mantienen constante en ambas especies. Por otro lado, al analizar los carioidiograma de estas especies se obtuvieron diferencias en la longitud de siete pares cromosómicos (pares: 1, 4, 5, 6, 7, 14, 28), sugiriendo un proceso de adición de heterocromatina. Considerando estos resultados se discute la diferenciación entre estas especies en el contexto de su distribución geográfica.

P-65 ORIGEN DE *Dactylopius coccus* COSTA: ¿PERTENECE ESTA ESPECIE A UN CLADO SUDAMERICANO?. (Origin of *Dactylopius coccus*: does this species belong to a Southamerican clade?).

Rodríguez, L.C.[1] & M. Méndez[2]. (1) Laboratorio de Química Ecológica, (2) Laboratorio de Vertebrados. Departamento de Ciencias Ecológicas. Universidad de Chile. Casilla 653, Santiago, Chile. (Patrocinio: Méndez, M)

Para los estudios biogeográficos las reconstrucciones filogenéticas constituyen una herramienta fundamental, dado que la distribución de las especies además de estar limitada por sus características ecológicas, puede estar determinada por factores históricos. El género *Dactylopius* comprende nueve especies, tres se distribuyen en Norteamérica y cinco en Sudamérica. La especie restante, *D. coccus* se encuentra en ambos hemisferios, principalmente en México y Perú donde ha sido utilizada como fuente de colorantes naturales desde tiempos precolombinos. El origen de esta especie es controversial pues las evidencias más antiguas de su uso se han encontrado en textiles Paracas (Perú), en tanto que las evidencias de su aprovechamiento sistemático se encuentran en establecimientos Toltecas (México). En este trabajo se evalúan ambas hipótesis utilizando las relaciones filogenéticas del grupo. Los resultados indican que *D. coccus* es una especie que se ubica en el clado de las especies sudamericanas. De acuerdo, a su posición filogenética, las relaciones entre las otras especies del género, la distribución restringida de las mismas y las evidencias de intercambios comerciales entre Mesoamérica y el área andina se sugiere que la distribución disjunta de *D. coccus* sería consecuencia de introducciones realizadas con propósitos comerciales en tiempos pre-colombinos en sentido Sur-Norte.

P-66 CENTRO DE ORIGEN Y RADIACION DEL GENERO *Hypsoblennius* (PISCES: BLENNIIDAE) BASADO EN UN ANALISIS FILOGENETICO: IMPLICANCIAS SOBRE SU CONSERVACION BIOLOGICA. (Center of origin and radiation of the genus *Hypsoblennius* (Pisces: Blenniidae) based on a phylogenetic analysis: implications on its biological conservation). Muñoz, A.A. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Patrocinio: Veloso, A.

El género *Hypsoblennius* comprende 14 especies presentes en aguas marinas litorales tropicales y templadas de Norte, Centro y Sudamérica. El presente trabajo tiene como objetivo principal proponer una hipótesis del posible centro de origen y direcciones de radiación de este género a través del análisis de su distribución actual y de una reconstrucción filogenética de las especies de *Hypsoblennius*. La reconstrucción filogenética se realizó en base a 23 caracteres morfológicos, los cuales fueron polarizados (derivados vs primitivos) utilizando a *Chasmodes saburrae* como grupo externo. Se usó a la máxima parsimonia como criterio de reconstrucción filogenética. Los resultados muestran que tres de las cuatro especies que habitan aguas tropicales y subtropicales del Caribe y sur-este de los Estados Unidos serían las especies más basales o primitivas del género, por lo que se postula a esta zona como centro de origen. Desde aquí radiaron otras especies, encontrándose actualmente, 10 de ellas en las costas del continente Americano distribuidas entre California y el sur de Chile. El único representante chileno, *H. sordidus*, sería una de las especies más derivadas dentro del grupo. Se discute la importancia relativa de conservación de especies que surgieron más tempranamente (basales) versus especies de aparición más reciente (derivadas).
Alejandro A. Muñoz es becario CONICYT

P-67 NIVEL DE OPTIMIZACION FISICA DE LA ESTRUCTURA DEL ARBOL BRONQUIAL EN *Rattus norvegicus* (Physical optimization level of the bronchial tree in *Rattus norvegicus*) Atala, C., Canals, M. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

Se ha postulado que la morfología del árbol bronquial se encuentra asociada a un adecuado flujo alveolar, mínima producción de entropía en la mecánica respiratoria y mínimo costo de materiales y energía. Sin embargo esta optimización se encuentra restringida por factores geométricos al adecuar un árbol de conducción en un volumen acotado. Cabe preguntarse si estas restricciones geométricas predominan sobre la optimización de las funciones físicas y cuál es el criterio determinante de estas últimas. En este trabajo se estudia el nivel de optimización del árbol bronquial con los criterios de mínimización del volumen, roce, potencia y superficie. Se estudian broncografías de 11 ratas numerando la generación bronquial y midiendo en los nodos los ángulos y diámetros. A partir de estos datos se calcularon las distancias desde la situación observada a un óptimo teórico. Se establecieron estas funciones de costo determinando que son distintas de cero independiente del criterio de optimización. Además en ambas especies predomina el criterio de mínimo volumen y potencia, con costos menores. Se muestra además una disminución de las distancias al óptimo a medida que disminuye el diámetro y aumenta el orden del nodo. Esto último estaría indicando una mayor optimización en la vía aérea fina

P-676 A CAMBIOS EN EL HOSPEDERO INDUCIDOS POR HERBIVORIA: ¿SUSCEPTIBILIDAD O DEFENSA DE LA PLANTA?. (Host changes induced by herbivory: plant susceptibility or defense?). Gonzáles, W.L.[1], Ramirez, C.C.[1], Olea, N.[2],(1) Laboratorio de Química Ecológica, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (2) Unidad de Microscopía Electrónica, Programa de Morfología, ICBM, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile. (Patrocinio: Niemeyer, H.M.).

El áfido *Sipha flava* (Forbes), recientemente detectado en la zona central de Chile, utiliza como plantas hospederas diversas especies de Poaceae tanto silvestres como cultivadas. *S. flava* ataca preferentemente la parte baja de la planta, constituida por las hojas más viejas, y produce el enrrojecimiento y/o clorosis de las hojas afectadas.
En el presente trabajo se evaluó los cambios característicos producidos por *S. flava* sobre *Sorghum halepense* (L.) Pers., tanto a nivel de la naturaleza química de la coloración como de las estructuras celulares comprometidas. Se estudiaron también las implicancias de estos cambios sobre la biología de *S. flava*.
En comparación con plantas no infestadas, se determinó que la coloración rojiza de plantas infestadas está asociada a la producción de antocianinas. A nivel celular, las microscopías de luz y electrónica revelaron un notable incremento de almidón en los cloroplastos y reestructuración del sistema de membranas tilacoidales, principalmente en las células que rodean a los vasos conductores. Por otro lado, el monitoreo a través de EPG (electrical penetration graphs) mostró que existen diferencias en la conducta alimentaria entre plantas sanas y previamente infestadas. La tasa media de crecimiento relativo del áfido fue significativamente mayor sobre hojas viejas previamente infestadas. Las implicancias de estos resultados se discuten en relación con la teoría de defensa en plantas así como en la susceptibilidad del recurso.
Financiamiento: Cátedra presidencial a HMN

P-67 B RELACION ENTRE PREFERENCIAS INTRA-PLANTA, ADECUACION BIOLOGICA Y DINAMICA POBLACIONAL EN EL AFIDO *Sipha flava* (Relationship between within-plant preference, performance, and population dynamics of the aphid *Sipha flava*) Gonzáles, W.L. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Patrocinio: Gianoli, E.

El áfido *Sipha flava* (Forbes), recientemente detectado en la zona central de Chile, utiliza como plantas hospederas diversas especies de Poaceae tanto silvestres como cultivadas. *S. flava* coloniza recurrentemente la parte baja de la planta, constituida por las hojas más viejas, y su ataque produce enrojecimiento y/o clorosis del tejido vegetal afectado.
En el presente trabajo se evaluó la preferencia y el patrón de distribución intra-planta de colonias de *S. flava* sobre maicillo, *Sorghum halepense*, así como el desempeño del áfido sobre hojas de diferentes edades (jóvenes y viejas, con y sin ataque previo). De manera complementaria, se evaluó el efecto de la colonización en hojas de diferente edad sobre la dinámica poblacional del áfido y sobre la biomasa vegetal.
S. flava mostró preferencia por las partes bajas de la planta. A través del tiempo, la creciente colonia de áfidos ocupó consistentemente las hojas más bajas disponibles. La tasa de crecimiento relativo del áfido sobre hojas viejas fue significativamente mayor en aquellas previamente atacadas, mientras que los tratamientos sobre hojas jóvenes no mostraron diferencias significativas. A nivel poblacional, las colonias formadas sobre hojas jóvenes mostraron una menor tasa de crecimiento y un mayor impacto sobre la biomasa vegetal que aquellas que se desarrollaron sobre hojas viejas. Se discute las implicancias de la preferencia de colonización sobre el desempeño y la dinámica poblacional del áfido.
Financiamiento: Cátedra presidencial a H.M.Niemeyer

PANELES II

ECOFISIOLOGIA VEGETAL y BOTANICA

P-68 **RESULTADOS PRELIMINARES SOBRE NODULACION RADICULAR POR *Rhizobium* EN *Sophora toromiro*.** (Preliminary results concerning root nodulation by *Rhizobium* in *Sophora toromiro*). Jordán, M., Larraín, M.; Tapia, A. & C. Roveraro. Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Email:mjordan@genes.bio.puc.cl

El crecimiento de plantas de *Sophora toromiro* (toromiro), especie endémica en peligro de extinción, aún bajo condiciones climáticas adecuadas en diversos microclimas de Chile tanto continental e insular, es particularmente lento evidenciando escasa formación de biomasa. Se ha observado en forma generalizada que muchas plantas decaen y senescen finalizados un par de años de crecimiento en vivero o en terreno, efecto no referido a causal biótica (ácaros) sino, a un problema fisiológico no determinado. Dada la generalización de esta respuesta bajo diversas condiciones, se asume inexistencia de requerimientos de frío insatisfechos, común en especies leñosas. Lo anterior junto a problemas de propagación vegetativa, germinación, incompatibilidad/erosión génica y explotación masiva de la especie ha sido causal de las limitaciones actuales. En este estudio se ha deseado considerar una de las variables posibles, dado que a diferencia de otras leguminosas, ejemplares examinadas de *S. toromiro* no muestran nodulación por infección de *Rhizobium*. Siendo la simbiosis con leguminosas un efecto natural común y generalizado, que favorece el suministro de nutrientes, especialmente de N para el huésped, se consideró la potencialidad de infectar toromiro. Con el objeto de evaluar la efectividad sobre el crecimiento de plantas enraizadas obtenidas *in vitro* y plántulas derivadas de semillas, se utilizó *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*. La inoculación se realizó mezclando 5 ml (suspensión de 15 gr. de *Rhizobium* comercial en 100 ml de agua) con 15 ml de medio nutritivo Nitsch (0.6% agar) autoclavado, previa gelificación en tubos de cultivo. A fin de lograr variabilidad/mutaciones, la cepa en suspensión se expuso a luz UV 253 nm a 12 cm de la fuente por 20 min. Finalizados 7-15 días de cultivo, sólo las raíces con cepa irradiada formaron nódulos con engrosamientos clásicos en la porción subapical y formación de nuevas células próximas al cilindro central. A pesar de ello, finalizadas dos semanas, no se encontraró en las preparaciones evidencia microscópica de bacteroides o hilo infectivo ni neo-formación de tejido vascular lateral característico a la simbiosis.

P-69 **PRESENCIA Y ABUNDANCIA DE RAICES PROTEIFORMES EN ETAPAS TEMPRANAS DE UN XEROSERE** (Presence and abundance of proteoid roots in xerosere early stages). Ramírez, C. y Garnica, S., Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Se supone que la presencia de raíces proteiformes favorece el desarrollo de las plantas en suelos con deficiencias nutricionales, lo que les permite actuar como pioneras o colonizadoras de las primeras etapas arbustivas del xerosere. Para comprobar esta hipótesis se investigó la abundancia de conglomerados proteiformes en cuatro especies de la familia *Proteaceae*.
Se trabajó en las faldas del volcán Osorno (Cascadas, Osorno, Chile) donde prosperan *Embothrium coccineum* (Notro), *Lomatia ferruginea* (Romerillo), *Lomatia hirsuta* (Radal) y *Gevuina avellana* (Avellano) colonizando escoria volcánica producto de pasadas erupciones. En ellos se midió tamaño del vástago, profundidad de arraigamiento y presencia, número y tamaño de los conglomerados proteiformes.
El mayor tamaño lo presentó el Romerillo y el menor el avellano. Todas presentaban arraigamiento superficial, pero la más profundizante fue el Avellano que penetró hasta 15 cm. El Romerillo presentó también el mayor número de conglomerados proteiformes (71 por planta), seguido por el Avellano (30). El Notro y el Radal presentaron escasos conglomerados proteiformes. El tamaño de los conglomerados proteiformes presentó la misma relación, aunque con menor variación. Se concluye que efectivamente los conglomerados proteiformes aparecen en las especies investigadas y que de ellas la más eficiente como colonizadora sería *Lomatia ferruginea*, el Romerillo.
(Financiado por la DID-UACH Proyecto Nº S-97-05)

P-70 **FASES DIARIAS DE LA CONTRACCION Y EXPANSION DE LOS TRONCOS EN *Pinus radiata*.** Daily phases of the contraction and expansion of the trunks in *Pinus radiata* trees.) Huber, A. y Trecaman, R. Instituto de Geociencias, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Los troncos de los árboles, debido a sus características biológicas y a cambios medioambientales, presentan una periodicidad diaria del crecimiento que se manifiesta en fases de contracción y expansión.
Se analizó el curso diario de la expansión y contracción de tres árboles de *Pinus radiata* y se relacionó esta oscilación con algunos factores ambientales.
Con un dendrómetro electrónico se midió la variación temporal del crecimiento fustal y con un termohigrógrafo la temperatura y humedad relativa del aire.
Dos situaciones describieron la variación diaria del crecimiento fustal. Un diámetro máximo, temprano en la mañana y uno mínimo durante la media-tarde. La máxima contracción diaria del tronco estuvo ligada a factores medioambientales que afectaron la transpiración del árbol, la disponibilidad de agua en el suelo y el potencial de evapotranspiración.
La evolución diaria del crecimiento del tronco, definida como el cambio total del diámetro en un período de 24 horas, se consideró equivalente al crecimiento efectivo del tronco. Esta resultante fue un indicador general de la conducta de la planta unida a condiciones que afectan su fisiología. El incremento promedio diario del diámetro para la época del año de mayor y menor crecimiento fue de 84 y 12 μm respectivamente. La expansión y contracción diaria del tronco estuvieron influidas por la temperatura y humedad relativa del aire.
La variación del contenido de humedad del floema y de la corteza controlaron la contracción y expansión del tronco.

P-71 **LONGEVIDAD FLORAL Y PROTANDRIA EN *Gevuina avellana* Mol. (PROTEACEAE).** Flower longevity and protandry in *Gevuina avellana* Mol. (Proteaceae). Riveros M*., M. Vera** y M.A. Neira**. Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias e Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Facultad de Agronomía. Universidad Austral de Chile. Casilla 567. Valdivia.

Gevuina avellana es un árbol nativo, siempreverde, propio del bosque valdiviano. Sus flores color blanco-crema se presentan en racimo de 45-70 flores. Durante la apertura floral la antera se abre y deja adherido a la superficie del estigma, la totalidad del polen. Hasta que ésta sea retirada como consecuencia de la actividad de los polinizadores, imposibilita la llegada de polen desde otra flor. En base a esta observación se pretende evaluar la acción del polen en la superficie del estigma, determinar la longevidad floral y el período de receptividad del estigma.
En 10 plantas de *G. avellana* ubicadas en el Fundo Santa Rosa de la Universidad Austral de Chile, (39°45'36''S / 73°14'55''W), se marcaron flores desde la fase de preantesis para determinar la longevidad, evaluando diariamente el estado de la flor. La duración del período de floración se registró semanalmente. Para determinar la acción de los granos de polen adheridos a la superficie del estigma se aislaron flores de la acción de los polinizadores. Para evaluar la receptividad del estigma se polinizó con polen proveniente de otros individuos.
La longevidad floral es de 6 días, iniciándose al cuarto día la madurez del estigma. Esta especie es protándrica, por lo tanto, los tres primeros días el estigma inmaduro se encuentra cubierto de polen, este cae finalmente ayudado por la actividad de los polinizadores. Cuando el polen cae por si solo el estigma es verde claro. Se pudo comprobar que el polen adherido en la superficie estigmática no logra germinar ni fecundar. A través de autopolinizaciones manuales no hubo formación de frutos, sin embargo en las polinizaciones cruzada manual hubo formación de frutos en un 21,3%.
PROYECTO FONDECYT 1970308; DIDUACH S-98-29.

P-72 **PRESENCIA DE OSMOFOROS EN ESPECIES DE LOS GENEROS *Chloraea* Lindl. Y *Gavilea* Pöpp. (ORCHIDACEAE).** (Osmophores in species of *Chloraea* Lindl. and *Gavilea* Pöpp. genera, Orchidaceae). C. Lehnebach y M. Riveros. Instituto de Botánica, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia

En las flores, la producción de aromas se produce a través de glándulas del perianto conocidas como osmóforos. Tanto la ubicación de los osmóforos como la naturaleza química de sus secreciones son específicas atrayendo a polinizadores de grupos taxonómicos determinados. En la familia de las *Orchidaceae* los aromas florales tienen una función de gran importancia en la atracción de sus polinizadores, más aun cundo éstas no ofrecen néctar ni polen como recompensa a sus polinizadores.
Esta investigación tiene como objetivo determinar la presencia de osmóforos en orquídeas nativas y su distribución en las estructuras florales. Con este fin, flores receptivas de los géneros *Chloraea* Lindl. (*Chl. gaudichaudii*, *Chl. lamellata* y *Chl. virescens*) y *Gavilea* Pöpp. (*G. leucantha*, *G. littoralis* y *G. odoratissima*) fueron sumergidas en una solución de Rojo Neutro (1:1.000) por un período de 2 a 24 horas. Durante este tiempo se evaluó de la reacción de la tinción sobre las estructuras florales.
Las áreas del perianto con una mayor reacción correspondieron principalmente a la columna (corona de la columna a los costados del polinario; pie de la columna y alas de la columna), en los canales nectaríferos, en el labelo (base del labelo, callosidades cercanas a la columna, parte o totalidad de las callosidades sobre el labelo), pétalos (verrugas basales) y en los sépalos laterales (algunas verrugas basales y las caudículas).
Proyecto DID-UACH S 98-29

P-73 **ACLIMATACION AL FRIO EN CULTIVARES DE CEBADA CON DIFERENTE ACUMULACION DE P-80** (Cold acclimation in barley cultivars with differential P-80 accumulation). Ulloa[1], N., Mol[1], V., García, M.[1], Salinas[1], M., Prado[2], V., Bravo[2], L. A, Corcuera[2], L. J y Alberdi[1], M. [1]Instituto de Botánica[1], Universidad Austral de Chile, Valdivia y Departamento de Botánica[2], Universidad de Concepción, Concepción.

Genotipos de cebada responden al frío con acumulación diferencial de la deshidrina P-80, siendo alta en cv Andes y Orwf, media en cv Frontera y baja en cv Alteza. Para establecer si existe relación entre la acumulación de P-80 y la resistencia al frío se estudió la tolerancia al congelamiento (TL_{50}), acumulación de solutos compatibles y parámetros fotosintéticos como indicadores de estrés en estos cultivares aclimatados al frío (4°C, flujo fotónico 180 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ y fotoperíodo de 16/8 h) por 21 días. La eficiencia fotoquímica (Fv/Fm), el rendimiento cuántico (ϕ PSII) y el apagamiento fotoquímico (qP) indicaron una capacidad fotosintética similar entre plantas control (23°C) y aclimatadas. Prolina y glicina-betaína foliares aumentaron con la aclimatación. P-80 se acumuló preferentemente alrededor los haces vasculares, no correlacionándose con la adquisición de tolerancia al congelamiento de la hoja completa. Es probable que P-80 sólo crioproteja a los haces vasculares. Otros solutos, como ser fructanos, además de prolina y glicina betaína protegerían contra el congelamiento al resto del tejido foliar.
FONDECYT 1980552

P-74 **IMPLEMENTACION DE UN SISTEMA DE REGENERACION EN *Pinus radiata* QUE PERMITA SU TRANSFORMACION GENETICA.** (Implementation of a regeneration system in *Pinus radiata* that may allow its genetic transformation). Cerda, F., Gebauer, M., Arce-Johnson, P. Dpto. de Genética Molecular y Microbiología, Fac. de Ciencias Biológicas y Lab. de Biotecnología, Fac. de Agronomía e Ingeniería Forestal. P. Universidad Católica de Chile.

El género *Pinus* constituye la fuente principal de maderas blandas, celulosa y resinas, por lo cual se ha buscado constantemente mejorar las especies de interés forestal. Los largos períodos generacionales han obstaculizado la obtención de resultados en el corto plazo. Para superarlo se han desarrollado procedimientos que permiten la obtención de clones a partir de semillas de alta calidad. Una de las metodologías más utilizadas, es la micropropagación *in vitro*. Esta técnica mejora la introducción de material genético a una futura planta porque se realiza sobre células aisladas o pequeños grupos de ellas.
En *Pinus radiata* estamos implementando los sistemas de Organogénesis y Embriogénesis somática. La Organogénesis somática ha permitido obtener brotes a partir de embriones cigóticos maduros cultivados en medio LP mejorado y suplementado con BAP (6-Benzilaminopurina). Mediante Embriogénesis somática, estamos tratando de generar embriones a partir de semillas inmaduras cultivadas en distintos medios con BAP y 2,4-D (2,4-Acido Diclorofenoxiacético). En este trabajo se describen los procesos de generación, mantención y multiplicación de brotes como también los estudios histológicos del material. Además, se muestran los resultados preliminares de la inducción de tejido embriogénico. Finalmente, se presenta la estandarización de las condiciones de expresión transiente en tejido Organogénico y Embriogénico del gen reportero *uid*A (β-Glucuronidasa) de *E. coli*.
Financiado: Proyecto FONTEC-CORFO-Embriogénesis somática, Forestales; Mininco, Bio-Bio y Millalemu.

P-75 **IDENTIFICACION DE cDNA DIFERENCIALES EN *Deschampsia antarctica Desv.* ACLIMATADA AL FRIO** (Identification of differential cDNAs in cold acclimated *D.antarctica).* Mujica, L.[1], Gutiérrez, A.[2], Alberdi, M.[1], Concha, I.I.[1] y Gidekel, M.[2] Instituto de Botánica y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Universidad Austral de Chile[1] y Unidad de Biotecnología y Protección Vegetal, INIA-Carillanca[2], Chile.

Se estudia la síntesis de mRNA involucrados en los mecanismos de respuesta al frío en raíces y hojas de la gramínea tolerante a la congelación *D. antarctica Desv.*, utilizando el método mRNA Differential Display. Por transcripción reversa y reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se amplificaron secuencias parciales de cDNA, desde un subgrupo de mRNA, muestreados en un gel de secuenciación. El iniciador 3' más dos bases adicionales, se unieron al extremo poliadenilado presente en la mayoría de los mRNA, seguido por la reacción de PCR en presencia de un decámero de secuencia arbitraria.
De 8 combinaciones de oligonucleótidos, se observó 1674 fragmentos de cDNA, siendo 52 diferenciales. 31 fragmentos se indujeron y 21 se reprimieron por frío a 4°C. Los fragmentos diferenciales se escindieron de los geles, reamplificaron con los mismos partidores y clonaron en el vector pZErO-2. Los fragmentos clonados se secuenciaron (secuenciador automático, ABI 310 INIA-Carrillanca) y compararon en la base de datos BLASTA. De los 10 fragmentos secuenciados 7 de ellos presentaron homología con una secuencia en otro organismo.
Proyecto FONDECYT 1970637 a M. Alberdi

PANELES II
FARMACOLOGIA

P-76 **BUSQUEDA DE UN MARCADOR DE EDAD DE MUSCULO DE RATA.**(Search of an age marker of rat muscle). Sardón, M., García[1], L., Kurte[1], M., Cuenca[1], X., Vinagre[2], J., Torres[3], N., Puente, J. y Valenzuela[1], M.A. [1]Depto Bioquímica y Biología Molecular, [2]Depto Ciencias y Tecnología de los Alimentos, [3]CEPEDEQ. Fac. Cs Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La actividad de la enzima prolilhidroxilasa muscular aumenta con la edad del individuo, lo que podría estar asociado a un mayor entrecruzamiento del colágeno. Con estos antecedentes se ha propuesto intentar demostrar en músculo de rata que conjuntamente con la edad del animal aumenta la proporción de hidroxiprolina (OHPro) respecto al contenido de prolina (Pro). Se ha aislado el colágeno del músculo quadriceps de ratas recién nacidas, entre 4-5 meses y entre 16-18 meses de edad, mediante extracciones con cloruro de calcio, SDS y agua. Posteriormente, el colágeno se hidroliza en condiciones ácidas. Una vez evaporado el ácido se derivatizan todos los aminoácidos primarios y finalmente, con fluorescamina en medio alcalino se derivatizan los iminoácidos (Pro, OHPro). El análisis de los iminoácidos se efectuó por electroforesis capilar a pH 8,3 y 27 kV.
La proporción de prolina e hidroxiprolina del músculo varía según la edad de la rata, encontrándose un mayor cuociente Pro/OHPro en el caso del músculo de rata recién nacida, disminuyendo en los otros dos grupos, observándose el menor valor del cuociente en las ratas mayores de un año. En conclusión, la determinación del cuociente Pro/OHPro podría ser un marcador de edad en músculo.

P-77 **TOXINAS DEL TIPO PARALIZANTE Y DIARREICO PRODUCIDAS POR BACTERIAS MARINAS** (Paralytic and Diarrheic like-toxins produced by marine bacteria). Córdova, J.L., Bustamante, J., Briones, R., Sfeir, A. Y Lembeye, G. Fundación Ciencia Para La Vida, Santiago, Chile.

El *Alexandrium catenella* y *Dinophysis acuta* han sido identificados como los dinoflagelados responsables de producir el Veneno Diarreico y Paralizante de los mariscos (VDM y VPM) respectivamente, que se encuentran en los bivalvos de las regiones más australes de Chile.
Muestras de fondo y superficie marinas obtenidas del Estrecho de Magallanes durante el Crucero CIMAR FIORDO III, contienen bacterias de vida libre productoras de VPM, lo cual fue demostrado por el ensayo de inhibición de aglutinación (PSP-ts) y HPLC.
Igualmente, muestras procedentes de fondo y superficie procedentes de la XI región y *D. Acuta* aislada en Raúl Marín Balmaceda, XI región, contienen bacterias productoras de VDM como se demuestra por ensayo DSP-ts e inhibición de la fosfatasa. El perfil de toxinas de origen bacteriano está siendo determinado mediante LC/MS.
Estas bacterias junto con las bacterias tóxicas intracelulares de *A. Catenella* participarían en la toxicidad detectada en los mariscos. Se discutirá el posible rol de las bacterias en la toxicidad informada para la I y II región, y cómo las bacterias podrían producir un florecimiento tóxico.
Esta investigación fue financiada por el CIMAR FIORDO III y la Pablo Valenzuela & Bernardita Méndez Foundation.

P-78 ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS COSTOS DE LAS RECETAS MEDICAS ENTRE EL SISTEMA PUBLICO Y PRIVADO DE SALUD. (Comparative study of the medical prescriptions costs between the public and private health systems) Kägi, M.y Kramer V. Programa de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El incumplimiento de la terapia farmacológica representa una de las principales causas de fracaso del tratamiento y dentro de factores tenemos: falta de comprensión, polifarmacia, costo y aparición de efectos adversos.
Objetivo: Cuantificar y comparar el costo de una receta médica entre la farmacia del policlínico SNSS y farmacias privadas. Correlacionar el costo con el nivel socioeconómico(nivel Fonasa).
Método: Se encuestaron 100 pacientes al momento de presentar su receta en la farmacia del policlínico. El costo de la receta en farmacias privadas se obtuvo consultando como cliente.
Resultados: El número promedio de fármacos prescritos fue de 2,4. El valor promedio en pesos de las cien recetas fue: en la farmacia del policlínico $2.971, farmacia de cadena $7.030 y farmacia independiente $7.432. En promedio el valor de la receta obtenida en las farmacias privadas fue de 3,6 veces más cara que farmacia policlínico. Nivel Fonasa A=12% ,B=40% C=4% D=15%, Pensión Asistencial=28%.Un 80% de las recetas tienen un valor ≤ $10.000 siendo inaccesible adquirirlas en una farmacia privada para la gran mayoría de la población encuestada (80%) por tener un ingreso inferior a $71.400
Conclusión: Más del 80% de la muestra no podría adherirse al tratamiento farmacologico frente a la eventual necesidad de adquirirla en el sector privado.

P-79 EFECTOS DE LA ADMINISTRACION AGUDA Y CRONICA DE MORFINA SOBRE AMINOACIDOS EXCITADORES EN EL NUCLEO ACCUMBENS (Effects of acute and chronic administration of morphine on excitatory aminoacids in the nucleus accumbens) Oliva P.[1] , Sepúlveda M.J.[1], Contreras E.[2]. Departamento de Farmacología[1], Departamento de Fisiopatología[2], Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Se evalúan los cambios en las concentraciones extracelulares de glutamato y aspartato en el núcleo accumbens de ratas luego de la administración aguda y crónica de morfina.
Se emplearon ratas Sprague-Dawley implantadas con cánulas de microdiálisis en el núcleo accumbens. Las muestras se obtuvieron en animal despierto y que se mueve libremente, y fueron analizadas mediante electroforesis capilar con detección de fluorescencia inducida por láser. Se realizó un tratamiento crónico con dosis crecientes de morfina durante 7 días; los animales fueron deprivados del opiáceo por 96 hr.
Se observó una disminución significativa de las concentraciones de glutamato y aspartato luego de la administración aguda de morfina. Después del tratamiento crónico, las concentraciones de estos neurotransmisores no difieren respecto del grupo control, lo que demuestra el proceso de adaptación en curso. La abstinencia de morfina por 96 horas indujo un aumento significativo de ambos aminoácidos, lo cual fue revertido con una dosis de morfina.
Las concentraciones de glutamato y aspartato en el núcleo accumbens, decrecen por la acción de morfina, se normalizan durante la tolerancia y se incrementan al suspender el opiáceo. Este último efecto es revertido por una dosis del analgésico.
Financiado por D.I. 97.032.004-1.0 and BIP 20117780-0

P-80 EFECTOS DE MORFINA Y DIZOCILPINA EN LAS CONCENTRACIONES DE GLUTAMATO Y ASPARTATO EN EL NUCLEO VPL DEL TALAMO DE RATAS CON HIPERALGESIA. (Effects of morphine and dizocilpine on glutamate and aspartate concentrations in the VPL thalamic nuclei of rats with hyperalgesia). Abarca C.[1], Sepúlveda M. J.[1], Silva E.[3], Contreras E.[2] Departamentos de Farmacología[1] y Fisiopatología[2], Facultad Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción y Departamento de Fisiología[3], Escuela de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

Se ha sugerido la participación de glutamato, a través de los receptores NMDA, en la hiperalgesia central inducida por inflamación. En la mayor parte de los trabajos, los efectos se han estudiado a nivel de la médula espinal.
En este trabajo se investigan los efectos de morfina, dizocilpina y riluzol en la hiperalgesia inducida por inyección de carragenina en la pata de la rata y los cambios neuroquímicos asociados en dializados del núcleo VPL del tálamo mediante microdiálisis acoplada a electroforesis capilar con detección de fluorescencia inducida por láser .
Los tres fármacos disminuyeron la hiperalgesia cuando se administraron previamente a la inducción de inflamación. La morfina y el riluzol disminuyeron la concentración de glutamato en el núcleo VPL del tálamo. El riluzol también redujo la de aspartato, citrulina y arginina.
Los experimentos sugieren que la morfina y el riluzol atenúan la hiperalgesia inducida por carragenina, por lo menos en parte, por disminución de glutamato en el núcleo VPL del tálamo.
Financiado por D.I. 97.032.004-1.0 and BIP 20117780-0

P-81 DETERMINACION DE DOSIS LETAL CINCUENTA DE LUPANINA Y DETERMINACION DEL EFECTO DE 1/10 DE ESTA DOSIS SOBRE LA CONDUCTA DE POLLOS BROILER.*. Determination of the LD50 for lupamin and determination of the effect of 1/10 this dose on the conduct of broiler chiken. Olivares, P.; Ahumada, F. ; Cubillos, A.;Gädicke, P. Caballero, E. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Se determina la dosis letal cincuenta (DL_{50}) del alcaloide de Lupinus albus: lupanina, administrada vía sonda intragluvial, en pollos broiler de 7 días de edad, investigándose posteriormente el efecto sobre conducta en prueba de campo abierto, de 1/10 de la DL_{50}.
Se utilizaron 119 pollos broiler Hubbard, en la determinación de la DL_{50} mediante el método mixto gráfico numérico de Lichfield y Wilcoxon modificado para computadores. Para la prueba de campo abierto, se utilizaron 60 pollos de 14 días de edad, los que posterior a una primera medición de comportamiento, se asignaron al azar a tres grupos de 20 aves cada uno: control (sin administración); testigo negativo (administrado intragluvialmente con agua destilada) y tratado (lupanina 1/10 de DL_{50}). Las administraciones se efectuaron a los 14, 15, 16 y 17 días de edad. Las mediciones de comportamiento se efectuaron a los 14 y 28 días de edad.
Los resultados muestran que la DL_{50} de lupanina en aves sin sexar es de 1117,96 (1001,90 – 1247,46) mg/kg, lo cual indica que es una sustancia ligeramente tóxica. En los machos este valor fue de 565,15 (330,74 – 965,70) mg/kg y en las hembras de 1186,50 (980,50 – 1274,96) mg/kg. El análisis de los resultados de las variables medidas en campo abierto: inmovilidad tónica, tiempo de permanencia en decúbito esternal, cuadrados avanzados, número de vocalizaciones y número de defecaciones sobre el tablero de campo abierto, permite deducir que la lupanina no produce modificaciones significativas ($p>0.05$)sobre estos indicadores de conducta.
*Proyecto FONDECYT 1970404

P-82 **EFECTO DE UN ESTRES AGUDO SOBRE LA ADQUISICION DE RESPUESTAS CONDICIONADAS EN RATAS HEMBRAS Y MACHOS.** (Effects of acute stress on the acquisition of conditioned responses in female and male rats). Delgado, C., y Díaz-Véliz, G. Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Este trabajo pretende determinar los efectos del estrés agudo, provocado por la exposición a un choque eléctrico inescapable, sobre la adquisición de una respuesta condicionada de evitación activa, en ratas hembras, a través de las cuatro etapas de su ciclo estral, y en ratas machos.
Utilizamos 100 ratas Sprague-Dawley, 80 hembras y 20 machos. A las hembras se les realizó frotis vaginales diarios para determinar la etapa del ciclo estral al momento de realizar los experimentos. El estrés agudo se indujo colocando las ratas en una caja de condicionamiento donde fueron sometidas a 60 choques eléctricos inescapables (1mA, 15 s) con intervalos de 45 s entre choques. Las ratas controles se colocaron en la misma caja sin aplicarle choques eléctricos. Tres días después todas las ratas se sometieron a 50 ensayos de adquisición de respuestas condicionadas.
El estrés agudo produjo una disminución significativa de la adquisición de respuestas condicionadas en las ratas machos y hembras, en las etapas de metaestro y proestro. En cambio, en las ratas hembras en diestro y estro esta conducta no se modificó significativamente al comparar el grupo expuesto al estrés con el grupo control. El choque eléctrico inescapable aumentó significativamente las fallas en el escape en todos los grupos experimentales. Estos resultados sugieren que las ratas hembras en las etapas de diestro y estro tendrían algún grado de protección al estrés, manifestado en la capacidad de adquirir una respuesta condicionada, lo cual podría atribuirse a las variaciones hormonales producidas a través del ciclo estral.

P-83 **ACTIVIDAD MOTORA ESPONTANEA Y EXPLORACION DE UN LABERINTO EN CRUZ EN RATAS HEMBRAS Y MACHOS SOMETIDAS A UN ESTRES AGUDO.** (Spontaneous motor activity and exploration of a plus-maze in female and male rats submitted to acute stress). Délano, P. y Mora, S. Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El objetivo de este trabajo es determinar la influencia del estado hormonal sexual sobre las consecuencias motoras de un estrés agudo. Se comparan los efectos de la exposición a un choque eléctrico inescapable sobre la actividad motora espontánea y la exploración de un laberinto en cruz, en ratas hembras, en las cuatro etapas del ciclo estral, y en ratas machos.
Se emplearon ratas Sprague-Dawley machos y hembras, a estas últimas se les realizaron frotis vaginales diarios para determinar la etapa del ciclo estral. Se les colocó en una caja de condicionamiento y fueron sometidas a 60 choques eléctricos inescapables (1mA, 15 s), con intervalos de 45 s entre choques. Tres días después se registraron las siguientes respuestas motoras: actividad total, medida en un monitor, levantadas, sacudidas de cabeza, tiempo gastado en limpieza, locomoción y exploración de los brazos abiertos de un laberinto en cruz elevado.
La exposición al choque eléctrico inescapable produjo una disminución significativa de la actividad motora espontánea, del número de levantadas y de la locomoción en las ratas hembras en diestro, proestro y metaestro. Las ratas machos y hembras en estro no presentaron cambios significativos en estas conductas, sugiriendo una refractariedad a los efectos depresores del estrés inescapable. En la exploración del laberinto en cruz, sólo las ratas hembras en metaestro presentaron una disminución significativa en el porcentaje de entradas y tiempo de permanencia en el brazo abierto. Las consecuencias conductuales de la exposición al choque eléctrico inescapable serían dependientes del género y de las fluctuaciones hormonales que se presentan en la rata hembra a través de su ciclo estral.

P-84 **ESTILOS DE APRENDIZAJE DE ESTUDIANTES DE ENFERMERIA Y SU RELACION CON EL RENDIMIENTO ACADEMICO EN FARMACOLOGIA.** (Learning styles of nursing students and academic performance in a Pharmacology course). Bitran, M. y Zuñiga, D. Oficina de Educación Médica, Escuela de Medicina, P. Universidad Católica de Chile.

Con el objeto de identificar los estilos de aprendizaje de las estudiantes de Enfermería y determinar su asociación con el rendimiento académico en Farmacología, se administró el Inventario de Estilos de Aprendizaje de Kolb a 75 estudiantes de 2° año. El rendimiento académico se evaluó mediante cuatro pruebas de múltiple elección. Los estilos de aprendizaje: convergente, divergente, asimilador y acomodador, surgen de la combinación de una modalidad de percepción de la información (experiencia concreta o conceptualización abstracta), con una modalidad de utilización de la información (experimentación activa u observación reflexiva).
El 55 % de las estudiantes pertenece al tipo Asimilador, (caracterizado por conceptualización abstracta y observación reflexiva); el 23 % al Convergente; el 14 % al Divergente y el 8 % al Acomodador. Los estilos de aprendizaje no explican el rendimiento académico, sin embargo, existe una correlación positiva entre conceptualización abstracta y rendimiento en dos de las cuatro pruebas y una correlación negativa entre experiencia concreta y rendimiento académico en tres de las cuatro pruebas. En conclusión, los procesos de percepción de la información tienen relación con el rendimiento académico en Farmacología, siendo la conceptualización abstracta una modalidad asociada con un mejor rendimiento académico y característica de la mayoría de las estudiantes de Enfermería.

P-85 **SENSIBILIZACION INDUCIDA POR MORFINA EN RATONES CARENTES DEL RECEPTOR CRH1** (Morphine-induced behavioral sensitization in CRH1-receptor knockout female mice). Sepúlveda, M.J.[1], Sillaber, I.[2] and Spanagel, R.[2] Departamento de Farmacología[1], Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción y Max Planck Institute of Psychiatry[2], Munich, Germany.

Se ha sugerido que la sensibilización tiene un papel importante en los procesos de dependencia. En la abstinencia alcohólica se ha observado la participación del factor liberador de corticotrofina (CRH), a través del receptor CRH1. Se ha demostrado que la administración de esta hormona produce una disminución de la sensibilización y de la dependencia de etanol. Para morfina la sensibilización ocurre a través de un incremento de la actividad locomotora. En este trabajo se estudia la influencia de esa hormona en la sensibilización morfínica en ratones hembras, normales y carentes del receptor, durante el ciclo estral.
Los ratones fueron inyectados durante cinco días con una dosis de 15 mg/kg y se registró la actividad motora durante dos horas mediante un sistema de video.
La morfina produjo estimulación de la actividad motora, efecto más pronunciado en los ratones carentes del receptor CRH1. Este efecto es dependiente del ciclo estral del animal, siendo mayor durante el diestro para los ratones mutantes y durante el estro para los ratones normales.
Se concluye que la sensibilización es un proceso dependiente del ciclo estral y que esta dependencia es más intensa en animales normales respecto de los carentes del receptor CRH1.
Financiado por D.I. 97.032.004-1.0 and BIP 20117780-0

P-86 ESTUDIO DE EFECTOS NO GENOMICOS DE ESTROGENOS Y PROGESTERONA SOBRE LA CAPTACION DE SEROTONINA POR MASTOCITOS PERITONEALES DE RATON. G. Oliva*. (Study of the non-genomic effects of estrogens and progesterone). B Barra E.Vega. Dpto. Farmacología. Fac. Cs. Biológicas Universidad de Concepción. (patrocinante: I. Rudolph)

La captación de serotonina desde el espacio extracelular es el principal mecanismo de regulación de la acción de esta amina En el útero la serotonina es un potente Uterotónico. A este nivel, el principal componente celular responsable de la captación de serotonina es el mastocito.
Oxitocina 0.03 nM es capaz de disminuir la velocidad máxima de captación de serotonina, tanto en mastocitos uterinos como peritoneales de ratón. En este trabajo nos proponemos estudiar los efectos genómicos y no genómicos de estrógenos y progesterona en el efecto inhibitorio de la captación de serotonina por oxitocina en mastocitos peritoneales de ratón.
Los estudios de radioligando nos han permitido observar un aumento en la unión de oxitocina a membranas de mastocitos purificados de ratones bajo predominio de estrógenos. Así, la expresión del sitio de unión para oxitocina en el mastocito estaría bajo la regulación de estrógenos. Basados en algunos trabajos publicados recientemente, nos propusimos analizar efectos no genómicos de estas hormonas. Se diseñaron experimentos de cinética de captación de serotonina usando mastocitos purifcados de ratones en estro. La captación fue más eficiente cuando en el medio de incubación no se agregó estrógenos ni progesterona (Vmáx: 52. ± 3.2 S/E2 y P,Vmáx: 22.5 ± 4.1 C/E2 y P) El efecto de oxitocina disminuye con la presencia de progesterona y aumenta con la presencia de estradiol (15±3 % inhibición (diestro), 51±7 % inhibición (estro) Todo lo anterior nos permite postular que en nuestro sistema en estudio, estrógenos y progesterona podrían estar participando en la regulación de la captación de serotonina tanto a nivel genómico como a nivel no genómico. Proyecto Fondecyt 2980059

PANELES II
BIOTECNOLOGIA

P- 87 **AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION MOLECULAR DE CEPAS DE LEVADURAS VINICAS.** (Isolation and molecular characterization of wine yeast strains.) Said, A.[1], Loyola, E.[2], Acevedo, E.[1], Prieto, C.[2]. (1) Dpto. Biología. Fac. Cs. Básicas. UMCE.(2) Dpto. Agroindustria y Tecnología de Alimentos. Fac. Cs. Agrarias y Forestales. U. de Chile.

Las cepas de levaduras vínicas constituyen uno de los factores más importantes en la producción de vinos. La capacidad fermentativa y la calidad de los vinos producidos varían de acuerdo a las cepas de levaduras vínicas empleadas en el proceso de elaboración. En la producción de vinos de calidad se emplean, normalmente cepas de levaduras comerciales seleccionadas provenientes del extranjero.
El objetivo de este estudio fue aislar y evaluar enológicamente cepas de *Saccharomyces cerevisiae* nativas del Valle de Casablanca y, diferenciar estas cepas mediante polimorfismo de longitud del ADN cromosomal y análisis de restricción del ADN mitocondrial.
Los análisis morfológicos y bioquímicos de las colonias aisladas de mostos en fermentación espontánea permitieron establecer que, la mayoría de éstas, pertenecen a la especie *Saccharomyces cerevisiae.* La evaluación enológica de estos clones permitió seleccionar un subconjunto de acuerdo a su rendimiento alcohólico, velocidad de fermentación, producción de ácido acético y azúcares residuales.
Los análisis comparativos del genoma nuclear y del ADN mitocondrial de las cepas seleccionadas enológicamente permitió establecer grupos de cepas con similares cariotipos electroforéticos y, con patrones específicos de restricción del ADN mitocondrial. En algunos casos, se observó una correlación entre un determinado cariotipo electroforético y un patrón específico de restricción.
(FONDECYT 1970545)

P-88 **DEGRADACION DE HIDROCARBUROS AROMATICOS POR CEPAS GRAM(+) Y GRAM(-) DE ORIGEN AMBIENTAL.** Molina,M. [1]. Cerda,F.[2] Urrutia,H.[2] Becerra,J[1]. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanograficas[1] Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas[2] Universidad de Concepción. Chile.

La mayora de los estudios han estado dirigidos hacia la selección de cepas bacterianas de origen ambiental con capacidad degradativa, lo que ha dado un gran impulso a la biorremediación que es considerada una herramienta ventajosa en la recuperación de diferentes ambientes. Mediante cultivos en sistemas discontinuos (batch) se comparó la capacidad degradativa de 3 cepas bacterianas 2 Gram(-) y 1Gram(+) de origen ambiental sobre antraceno 50 ppm.. Las cepas crecieron en un medio rico en sales y minerales al cual se le suministró el antraceno como única fuente de carbono y energía. Se dispusieron 4 sets de 3 matraces cada uno para el experimento, de los cuales 2 sets serían controles, 1 set para recuento en placas y un último set para cromatografía de gas con el objetivo de verificar degradación en el sustrato. Los resultados arrojaron un aumento de 1,5 logaritmo en el recuento en cuanto a tiempo de adaptación la cepa 30(-) presentó la fase lag menor de 0,34 hrs. y la cepa 4(+) la mayor con un tiempo de 2,77 hrs, en cuanto a la velocidad de crecimiento la cepa 30 arrojó la mayor tasa con un 0,30 ufc/h y las cepas 23 y 4 arrojaron resultados de 0,22 ufc/h y 0,15 ufc/h respectivamente. En cuanto a dergradación la cepa 30 fue la más eficiente degradando el 9,75% del sustrato y las cepas 23 y 4 degradaron 8,1% y 2,98% respectivamente.
Finalmente podemos concluir que las cepas gram(-) presentaron una menor fase de adaptación y una mayor tasa de degradación del sustrato.
Financiado por proyecto P.I.96.036.003-1.1-D.

P-89 **DESARROLLO DE ELISA BASADO EN ANTICUERPOS MONOCLONALES PARA LA DETECCIÓN DE *Renibacterium salmoninarum* Y *Piscirickettsia salmonis*** (Development of an ELISA based in monoclonal antibodies for the detection of *Renibacterium salmoninarum* and *Piscirickettsia salmonis*) Aranki, N., Jamett, A. y Yudelevich, A. BiosChile I.G.S.A. y Fundación Ciencia para la Vida, Avda. Marathon 1943, Santiago.

Actualmente Chile ocupa el segundo lugar en la producción de salmones y truchas a nivel mundial. Esta actividad es afectada por enfermedades bacterianas, virales y parasitarias, entre las cuales las más importantes son la causada por *R. salmoninarum* (BKD) y la causada por *P. salmonis* (SRS).
En este trabajo se presentan los resultados obtenidos con dos ELISA de captura basados en el uso de anticuerpos monoclonales (AMC) altamente específicos para estas bacterias. Para el desarrollo del ELISA-SRS se caracterizaron 7 AMC anti-*P. salmonis*, de los cuales se seleccionaron 2 para la fase de captura de la bacteria. Como sistema revelador se usó un tercer AMC conjugado con peroxidasa. Para el ELISA-BKD se evaluaron 6 AMC específicos, de los que se usaron 2 para la fase de captura y otros 2 se usaron para conjugarlos con peroxidasa. Ambos ELISA mostraron ausencia de reactividad cruzada con 10 patógenos diferentes de peces, y muestran además una alta sensibilidad para detectar los patógenos en muestras de tejidos de peces infectados. Finalmente los resultados de estabilidad a 4° y 37° C fueron muy satisfactorios. Estos ELISAs permitirán al salmonicultor disponer de un diagnóstico rápido y confiable para el manejo de sus peces.

P-90 **FISIOLOGIA DE ABLANDAMIENTO DE POMACEAS: ROL DEL ETILENO.** (Softening physiology of pommes: the role of ethylene) (1)Moya, M.A., (1)Sepulveda, G., (2)Moggia, C. y (3)Eyzaguirre, J.(1) Instituto Biol. Veg. y Biotec., y (2) Centro de Pomaceas, Universidad de Talca; (3) Lab. Bioquímica, Depto. Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Durante el proceso de maduración los frutos climatéricos, como manzanas y peras, experimentan una serie de cambios: desarrollo de color, aroma, sabor y cambio de textura. El ablandamiento de los frutos es el cambio físico que en mayor medida limita la vida de postcosecha.
Las pomaceas son cosechadas comercialmente cuando presentan una reducida tasa de producción de etileno y una elevada firmeza de pulpa (estado preclimatérico), para asegurar un almacenaje prolongado y su posterior comercialización. Cuando manzanas y peras son colocadas a temperatura ambiente, estas comienzan a entrar en fase climatérica, aumentando la tasa de producción de etileno y en paralelo comienza el ablandamiento del fruto, evidenciado por una reduccion en la firmeza de pulpa. El ablandamiento del fruto se debe, al menos en parte, a cambios en la estructura de la pared celular, debido a la acción de enzimas que la degradan. Al estudiar estas enzimas durante el ablandamiento, se observa en peras una clara participacion de α-manosidasa, α- y β-galactosidasa y poligalacturonasa. En manzanas solo α- y β-galactosidasa parecen estar participando. El aumento en actividad de estas enzimas coincide con el aumento en la tasa de producción de etileno durante la fase climatérica, lo que indica que etileno estaría estimulando y coordinando los eventos durante el ablandami

P-91 MAPEAMIENTO DE MUTACIONES EN LOS DETERMINANTES GENETICOS IMPLICADOS EN LA PRODUCCION DE LA MICROCINA E492. (Mapping of mutations in the genetic determinants involved in microcin E492 production)
Castillo, J. A., Corsini, G y, Strahsburger, E. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La cepa de *Klebsiella pneumoniae* RYC492 produce un polipéptido bactericida de Mr 6000 denominado microcina E429, que actúa despolarizando la membrana de enterobacterias. Los determinantes genéticos para la producción de esta microcina están localizados en el cromosoma bacteriano en un fragmento de 13 kb, el cual fue clonado en *Escherichia coli* lográndose expresar microcina con las mismas propiedades que la de *K. pneumoniae*. Para establecer el número de componentes genéticos que intervienen en la producción de microcina activa y su posible función, se realizó mutagénesis al azar usando el transposón Tn5, aislándose una colección de más de 200 mutantes no productoras de microcina activa. Mediante análisis de restricción, PCR y secuenciación de estos mutantes se ubicó la inserción de Tn5 en los diferentes determinantes genéticos del sistema. *mceA* y *mceB* corresponden al gen estructural de la microcina y al gen de inmunidad. Mutantes en *mceC* y *mceIJ* producen microcina inactiva lo que sugiere serían responsables de modificaciones post-traduccionales de la microcina. Mutantes en *mceD* presentan un fenotipo productor de microcina, pero ésta no es secretada al medio extracelular. Los genes *mceGH* codifican para los transportadores tipo ABC y sus mutantes no producen microcina. Mutantes en *mcF* producen un péptido de mayor tamaño que correspondería al precursor de la microcina, por tanto participaría en el procesamiento de la microcina.
FONDECYT 1991017.

P-92 ROL DE LA PROTEINA TfdR DE *Ralstonia eutropha*: UN REGULADOR TRANSCRIPCIONAL DE LA VIA DE DEGRADACION DE CLOROAROMATICOS. (Role of *Ralstonia eutropha* TfdR protein:a transcriptional regulator of chloroaromatic degradation pathway).
Guzmán, L. Laboratorio de Microbiología,Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile.Patrocinio: Dr. Bernardo Gonzalez O.

La bacteria *Ralstonia eutropha* JMP134 porta los genes *tfd* en el plásmido pJP4 confiriéndole capacidad de degradar 2,4-diclorofenoxiacetato y 3-clorobenzoato hasta β-cetoadipato, compuesto canalizable en el ciclo de Krebs. La expresión de operones catabólicos análogos en *Pseudomona putida* requiere de activadores transcripcionales tipo LysR (LTTR), y un inductor como muconato o 2-cloromuconato (intermediarios de la degradación de benzoato y 3-clorobenzoato, respectivamente). En este trabajo se postula que la expresión de los operones *tfd* en *Ralstonia eutropha* requeriría la participación de la proteína TfdR (LTTR) y un inductor para su actividad. Se analizó la interacción *in vitro* de TfdR con regiones promotoras, *tfd*T-$tfdC_ID_IE_IF_I$ (región T-C), $tfdR$-$tfdD_{II}C_{II}E_{II}F_{II}$ (región R-D_{II}), posibles blancos para TfdR. Ensayos de retardo en gel demostraron que TfdR es capaz de unirse a la región T-C formando un complejo DNA-proteína en condiciones no inducidas. La adición de 2,4-dicloromuconato o 2-cloromuconato resultó en la formación de un segundo complejo. Resultados similares se obtuvieron con la región R-D_{II}. Para confirmar el rol de TfdR como regulador transcripcional de este operón *tfd* y determinar cual es el mejor inductor de la vía, se construyeron fusiones transcripcionales al gen *lacZ* de los genes *tfdR-tfdCD*Δ (capaz de producir cloromuconato a partir de clorocatecol), *tfdR-tfdC*Δ(incapaz de formar cloromuconato) o -tfdCDΔ (carente de regulador). Cuando estas construcciones plasmidiales fueron introducidas en *Ralstonia eutropha JMP222* (cepa curada del plásmido pJP4) se observaron los niveles más altos de actividad β-galactosidasa cuando el gen *tfdC* estaba completo en presencia de inductor y niveles bajos en la cepa no inducida, y en las construcciones carente de regulador o incapaces de producir el inductor.
Esto demuestra que TfdR es otro activador tipo LysR, que regula la expresión del los operones *tfd* y depende de cloromuconato.
Financiado por Fondecyt, proyecto Postdoctoral 3970030.

P-93 CAMBIOS ENERGETICOS DURANTE EL DESARROLLO Y METAMORFOSIS DE *Chorus giganteus* (LESSON, 1829) A DIFERENTES TEMPERATURAS. (Energetic variations during development and metamorphosis of *Chorus giganteus* (Lesson, 1829) under different temperatures).
*López, V., **Gallardo, J., *Aguilera, C., **Cancino, J. *Martínez, G. *Biología Marina, Universidad Católica del Norte; **Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Santísima Concepción

El caracol *Chorus giganteus* presenta desarrollo larval intracapsular con larvas lecitotróficas que en sus primeros estadíos se alimentan de huevos nutricios. Estas larvas metamorfosean poco tiempo después de eclosionar. El objetivo de este trabajo fue comparar a distintas temperaturas la dinámica de la composición bioquímica proximal de larvas desde el estado trocófora post-ingestión hasta veliger eclosionada. Se midieron los carbohidratos, lípidos y proteínas de éstas mantenidas a 9, 12 y 15 °C. Esto se complementó con un análisis de los cambios en contenido energético una vez eclosionadas las larvas y metamorfoseadas a estado juvenil. Los resultados mostraron que la dinámica de los lípidos y carbohidratos, expresados en función de la materia orgánica total, es semejante para las diferentes temperaturas. Los lípidos en general no mostraron cambios significativos, mientras que los carbohidratos aumentaron entre el estado de larva veliger temprana y eclosionada. El contenido proteico varió durante el desarrollo en función de la temperatura. La temperatura afectó la composición bioquímica para un mismo estado de desarrollo. Las larvas eclosionadas disminuyeron significativamente su contenido energético durante las primeras 24 horas de natación. Sin embargo, durante la metamorfosis, no se registraron cambios significativos en los contenidos energéticos.
Financiamiento: FONDAP OyBM, Invertebrados.

PANELES II
NEUROBIOLOGIA

P-94 EXPRESION DE TRANSPORTADORES DE HEXOSAS EN TANICITOS CEREBRALES NO INVOLUCRADOS EN FUNCIONES DE BARRERA.(Hexose transporter expression in cerebral tanycytes not involved in barrier function). García M. A., Godoy, A., Montecinos, V., Nualart, F. Laboratorio de Neurobiología Celular y Tumoral. Dpto. de Histología y Embriología. Universidad de Concepción.

Se analizó la expresión de transportadores de hexosas (GLUTs) en tanicitos hipotalámicos de ratones y ratas, utilizando inmunocitoquímica e hibridación *in situ*. Además,desarrollamos cultivos de tanicitos aislados de hipotálamo de ratones y analizamos los parámetros cinéticos de la incorporación de 2-deoxiglucosa (DOG). Nuestros resultados muestran una sobre-expresión de GLUT1 en tanicitos β1, células que no están involucradas en la formación de la barrera LCR-eminencia media. Los estudios de hibridación *in situ* utilizando ribosondas para GLUT1, confirmaron la expresión de esta isoforma. Los transportadores GLUT2-5 no se detectaron en tanicitos *in situ*. Además, no se encontró reactividad para GFAP en las áreas hipotalámicas ricas en tanicitos GLUT1 positivos. En cultivos de tanicitos se realizó inmunodetección de 19 marcadores moleculares cuyos resultados mostraron expresión para vimentina y proteína S100. Además, se observó expresión de GLUT1 y GLUT2 en estas células en cultivo. El análisis de incorporación en el tiempo de DOG demostró que los tanicitos cultivados son capaces de incorporar elevadas cantidades de DOG en función del tiempo. Los análisis cinéticos nos permitieron determinar una Km aparente de 17mM, comprobando la presencia de GLUT2. Debido a que los tanicitos no están involucrados en función de barrera pero expresan altas concentraciones de GLUT1 sugerimos que estas células poseen una elevada tasa metabólica, pudiendo estar involucrada en la regulación de la concentración de glucosa a nivel del hipotálamo. Células involucradas en mecanismos sensores de los niveles de glucosa expresan GLUT2, molécula también detectada en tanicitos aislados.
Financiado por FONDECYT 1980130 y DIUC 96.035.001-1

P-95 LOCALIZACION INMUNOHISTOQUIMICA DE TRANSPORTADORES DE GLUCOSA EN EL CEREBRO DE PECES. (Immunohistochemical localization of glucose transporter in fish brains). Balmaceda, C. Laboratorio de Neurobiología Celular y Tumoral, Departamento de Histología y Embriología, Universidad de Concepción.(Patrocinante: V. Neumann).

Los transportadores de glucosa (GLUT) son glicoproteínas con 12 segmentos transmembrana. Se conocen cinco isoformas, que han sido fundamentalmente estudiadas en mamíferos. En el SNC se ha establecido la expresión de GLUT1 y GLUT3, existiendo evidencias para la expresión de GLUT2, GLUT4 y GLUT5. La mayor concentración de GLUT1 se observó en células endoteliales y membranas basolaterales de las células de los plexos coroideos. En este trabajo se ha estudiado, utilizando técnicas inmunocitoquímicas, la expresión de diferentes isoformas de GLUTs en el cerebro de peces óseos y cartilaginosos. Hemos detectado GLUT1 en diferentes células del SNC de peces. La mayor expresión se observó en las células de los plexos coroideos y endoteliales. En células de los plexos coroideos de peces cartilaginosos se detectó un nivel de expresión y localización de GLUT1 totalmente atípico dentro de las especies analizadas actualmente. GLUT1 se localizó en gran concentración tanto en membranas basolaterales como apicales de las células de los plexos. Aunque en peces se sugiere que el metabolismo de glucosa es muy bajo, las células cerebrales de estas especies parecen tener una expresión de GLUT muy similar a lo observado en mamíferos. La expresión elevada de GLUT1 y su distribución particular en las células de los plexos coroideos, sugiere adaptaciones fisiológicas muy especiales de un cerebro que posee una circulación de líquido cefalorraquídeo cerrada.
Financiamiento: FONDECYT 1980130, DIUC

P-96 REGULACION DE LA FUNCION DEL RECEPTOR DE GLICINA POR EL CITOESQUELETO EN NEURONAS ESPINALES DE RATON (Regulation of the glycine receptor function by the cytoskeleton in mouse spinal neurons). van Zundert, B. y Aguayo, L.G. Lab. de Neurofisiología, Depto. de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Una hipótesis general es que la agrupación y maduración de receptores de membrana dependen de su interacción con el citoesqueleto durante el desarrollo neuronal. En este estudio analizamos si la depolimerización de microtubulos por colchicina y filamentos de actina por citochalasina-D alteran la maduración de las propiedades fisiológicas del R-Gly a través de la tecnica 'whole-cell patch-clamp' en neuronas espinales de 10-12 DIV.
Aplicación aguda de colchicina y citochalasina-D disminuyó la corriente de glicina (rundown) con un velocidad similar al control (69±7%/60 min). Similarmente, tratamientos crónicos con colchicina y citochalasina-D fueron incapaces de cambiar la sensibilidad del R-Gly a glicina (31±1 μM), alterar la inhibición de la corriente por el antagonista estricnina (41±3%) o al bloqueador no-competitivo picrotoxina (96±1%). Realizamos también experimentos para analizar la importancia de microtubulos en la actividad sináptica espontánea dependiente del R-Gli. Interesantemente, a diferencia de la condición control, encontramos que células tratadas con colchicina mostraban corrientes inhibitorias glicinérgicas de menor amplitud.
En conclusión, sugerimos que el citoesqueleto no seria importante para la estabilización, función o maduración del R-Gli extrasináptico. Al contrario, parece ser importante para la localización de R-Gli en la sinapsis.
Financiado por Fondecyt 1980106.

P-97 EXPRESION FUNCIONAL E INMUNOCITOQUIMICA DE RECEPTORES DE GLICINA EN NEURONAS ESPINALES CULTIVADAS A BAJA Y ALTA DENSIDAD. (Functional expression and inmunocytochemestry of glycine receptors in apinal neurons cultured at low and high densities) Yévenes, G., van Zundert, B., Castillo, R. Laboratorio de Neurofisiología, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Patrocinio: Luis Aguayo H.)

Estudios recientes han sugerido que la expresión de receptores inhibitorios de glicina maduros dependería en la capacidad que tienen las neuronas para establecer contactos sinápticos. Por ejemplo, hemos demostrado cambios en sus propiedades fisiológicas en etapas de desarrollo, donde este receptor estaría formando agrupaciones (clusters). Con el propósito de estudiar la influencia del contacto sináptico en la expresión y función de receptores de glicina utilizamos cultivos espinales de ratón a dos densidades de plantado (baja densidad: 150.000 cel/ml; alta densidad: 350.000 cel/ml). La expresión del receptor fue estudiada con un anticuerpo anti R-glicina (α_{1-4}) utilizando microscopía de fluorescencia y análisis de imágenes para cuantificar la intensidad de fluorescencia promedio por célula marcada y el número de clusters de receptores por célula. Además, mediante la técnica de patch-clamp se analizó la aparición de actividad sináptica glicinérgica durante el desarrollo *in vitro*. Interesantemente, los resultados indicaron que ya a los 5 días se encuentran clusters de receptores de glicina, tanto en células plantadas a baja como a alta densidad, por ejemplo, la intensidad de fluorescencia total fue similar en ambos cultivos (56±1 vs 52±4 U.A.). Sólo a los 13 días encontramos un aumento de esta señal en alta densidad (46±6 vs. 71±4 U.A.). Los experimentos electrofisiológicos, por otro lado, demostraron una baja frecuencia (16%) de actividad sináptica en cultivos de baja densidad a los 5 días *in vitro*. Lo anterior sugiere que la presencia de receptores de glicina en neuronas plantadas a baja densidad (5 DIV) es independiente de la actividad sináptica.
Financiado por Proyecto Fondecyt 1980106.

P-98 **PRESENCIA DE LA PROTEINA RF-Gly I EN PLACA DEL PISO DE EMBRIONES DE BOVINO Y POLLO.** (Presence of the RF-Gly I in the floor plate of bovine and chicken embryos). Muñoz R.I.[1], Guiñazu, M,F.[1], Richter, H.G.[1], Montecinos. H.[1], Del Brio. Mª.A.[2], Riera. P.[2]. 1)Instituto de Histología y Patología. Universidad Austral de Chile. 2)Dpto. Morfología y Biología Celular Universidad de Oviedo. Patrocinante: Dra Silvia Hein G.

La diferenciación a lo largo del eje longitudinal de la placa del piso (PP) es un hecho bien establecido. A nivel de médula espinal la PP participa en la diferenciación de las neuronas ventrales. La función de la región más cefálica de la PP es poco conocida. Estudios recientes apoyan la posibilidad de una homología entre componentes secretados por la PP del cerebro posterior y la proteína RF-GlyI secretada por el órgano subcomisural (OSC), una diferenciación del extremo cefálico de la placa del techo. En este trabajo se utilizaron anticuerpos que reconocen RF-GlyI y partidores para PCR diseñados a partir de la secuencia de RF-Gly I con los siguientes objetivos: 1) Identificar el compuesto presente en PP que inmunorreacciona con dichos anticuerpos. 2) Analizar variaciones temporales y regionales de la presencia de material inmunorreactivo en PP. 3) Estudiar si el mismo gen es coexpresado en OSC y PP. Los resultados demuestran que PP de embriones de bovino y pollo secretan un compuesto similar o idéntico a las glicoproteínas de 540 y 450 kDa secretadas por el OSC de bovino (FP-GlyI); pudiendo tratarse de la expresión del mismo gen en OSC y PP. El análisis inmunocitoquímico en embriones de bovino y pollo reveló que FP-GlyI se expresa en un período delimitado del desarrollo. En embriones de pollo sólo la PP del tronco cerebral expresa FP-GlyI; esta proteína se circunscribe al polo celular apical. Esta y otras evidencias sugieren que FP-GlyI se libera a la cavidad ventricular, desde donde podria alcanzar blancos distantes.
Financiamiento: Proyecto FONDECYT 197-0627; Dirección de Investigación Universidad Austral de Chile, Proyectos D-99-02 y D-99-03; Universidad de Oviedo NP-97-6.

P-99 **UNION Y TRANSPORTE DE AMINAS BIOLOGICAS POR LA FIBRA DE REISSNER** (Binding and transport of amines by the Reissner´s Fiber) Caprile, T; Rodríguez, S. Instituto de Histología y Patología. Universidad Austral de Chile.

El órgano subcomisural (OSC) es un órgano circunventricular que secreta glicoproteínas al líquido cefalorraquideo (LCR), las cuales se ensamblan formando la Fibra de Reissner (FR). Por la adición de nuevas móleculas a su extremo cefálico la FR crece y se extiende a lo largo del acueducto de Silvio, cuarto ventrículo y canal central de la médula espinal, hasta llegar al ventrículo teminal, en el filum; aqui la FR se desensambla y sus moléculas pasan a los vasos sanguíneos. Nuestra hipótesis es que la FR participa en la depuración del LCR uniendo aminas biólogicas y transportandolas hasta el ventrículo terminal donde el complejo proteína FR-monoamina pasaría a la sangre. En el presente trabajo se realizaron experimentos *in vivo e in vitro*. En los primeros se inyectó serotonina o noradrenalina tritiada al ventrículo lateral de ratas que fueron sacrificadas 8 horas más tarde. Cortes de cerebro y médula espinal fueron procesados para radioautografía. Se encontró que la FR era la única estructura intensamente marcada. Los estudios de unión *in vitro* fueron realizados con FR aislada de médula espinal de bovino. Estos experimentos mostraron que la FR tiene la capacidad de unir varias monoaminas, que la unión es cooperativa y que distintas aminas comparten un mismo sitio de unión.
Financiado por FONDECYT 197-0627 y por DID de la UACH: D-99-04

P-100 **LA *PARS TUBERALIS* DE LA HIPOFISIS SECRETA COMPUESTOS DE NATURALEZA GLICOPROTEICA MUY TEMPRANAMENTE EN LA ONTOGENIA.** (The pars tuberalis of the pituitary gland secrete glycoproteins very early during ontogenesis). Guerra, M. Instituto de Histología y Patología.Universidad Austral de Chile. (Patrocinio: EM Rodríguez).

La *pars tuberalis* (PT) es una región de la adenohipófisis constituída principalmente por una población de células (células PT-específicas), distintas a las células de la *pars distalis* (PD), que se diferencian muy tempranamente durante la ontogenia. Presentan características ultraestructurales propias de células endocrinas. Recientemente hemos obtenido un anticuerpo (Ab-21) contra una proteína de 21 kDa que es secretada por explantes de PT de bovino al medio de cultivo. Con el objetivo de analizar el desarrollo ontogenético de la capacidad secretoria de la PT de la rata se empleó el método de la inmunoperoxidasa utilizando Ab-21 como primer anticuerpo. Se encontraron células Ab-21 inmunorreactivas en el primordio de la PT desde el día 14 de gestación (E-14). En E-15 la intensidad de reacción y densidad de las células inmunorreactivas fue comparable con la observada en la PT de la rata adulta. En la PD Ab-21 mostró células inmunorreactivas en E-17, lo que coincide con la aparición de inmunorreactividad para las hormonas glicoproteicas de la adenohipófisis (LH, FSH, TSH). Estos resultados sugieren que el material secretorio Ab-21 inmunorreactivo de la PT presenta homología estructural con las hormonas glicoproteicas secretadas por la PD. Este material podría corresponder al primer compuesto hormonal secretado por la hipófisis durante el desarrollo. La estrecha relación que existe entre las células PT y los vasos portales, y la presencia de canales intercelulares que comunican estas células con el espacio subaracnoideo, sugieren que dicho material podría ser liberado a la circulación portal y/o al líquido cefalorraquídeo (LCR) para alcanzar la PD o blancos distantes en el sistema nervioso central (SNC).
Financiado por proyecto FONDECYT 197-0627

P-101 **MALNUTRICION PRENATAL OCULTA: EFECTO EN LA ACTIVIDAD DE NEURONAS HIPOTALAMICAS PARAVENTRICULARES DE RATAS LACTANTES.** (Hidden prenatal malnutrition: effect on paraventricular hypothalamic neuronal activity of lactating rats). Flores, F[1]., Pérez, H.[2], Hernández, A[1]., Soto-Moyano, R[2]. [1]Dep. Ciencias Biológicas, Fac. Química y Biología, Univ. Santiago de Chile, [2] Unidad Neurofisiología y Biofísica, INTA, Univ. de Chile.

La administración de una dieta hipoproteica (8% caseína) isocalórica a ratas hembras, antes y durante la preñez, produce malnutrición oculta en las crías caracterizada por aumento de los niveles y liberación de noradrenalina central y por alteraciones de funcionalidad de las neuronas corticales, aún cuando los pesos corporal y cerebral se mantienen normales. Considerando que la malnutrición precoz se asocia a déficits de la respuesta inmune, en el presente estudio se investigó el efecto de la malnutrición oculta en la actividad neuronal del núcleo paraventricular del hipotálamo, región en que se encuentra la mayor parte de las neuronas productoras de CRH. Los experimentos se realizaron en ratas con desnutrición oculta de 8-10 y 17-19 días de edad. Las ratas fueron anestesiadas y se registró la actividad neuronal multiunitaria espontánea en el núcleo paraventricular mediante un microelectrodo de tungsteno. Los registros fueron digitalizados, rectificados en onda completa e integrados en una ventana de tiempo de 2 segundos. La actividad neuronal se evaluó en términos del área bajo la curva y las frecuencias dominantes se determinaron mediante transformada rápida de Fourier. En series experimentales paralelas se estudió el efecto de la desnutrición oculta en la liberación de ^{3}H-noradrenalina en la corteza visual de ratas de 1 y 19 días de edad. Los resultados muestran que la malnutrición oculta: (i) no indujo cambios en el peso corporal y cerebral al nacimiento de las crías; (ii) redujo la frecuencia promedio de descarga de las neuronas paraventriculares a los 8-10 días de edad; y (iii) aumentó la liberación de ^{3}H-noradrenalina en la corteza visual de los neonatos. A los 17-19 días de edad no se observaron alteraciones electrofisiológicas o neuroquímicas.
Proyecto Red Norte-Sur INSERM.

P-102 **INTERACCIONES SELECTIVAS ENTRE CELULAS TUMORALES EPITELIALES Y CELULAS PROGENITORAS MESENQUIMATICAS.** (Selective interactions between epithelial tumor cells and mesenchymal stromal cells) Hombauer, H. Unidad de Biología Celular, INTA, Universidad de Chile.

La presencia de células tumorales de origen mamario en la médula ósea (micrometástasis), es un factor de pronóstico de recaída en pacientes con cáncer de mama. Sin embargo, los eventos celulares y moleculares asociados no están bien definidos, especulándose que células de estroma de la médula ósea pueden ser un blanco de interacción apropiado. Entre estas, nos ha interesado estudiar las Células Progenitoras Mesenquimáticas (CPM) debido a sus propiedades de autorenovación, diferenciación y producción de matriz extracelular y citoquinas. En este trabajo, se analiza la interacción entre CPM humanas y células tumorales epiteliales mamarias (MCF-7). En un modelo de cocultivo, MCF-7 se adhieren (95%) y proliferan (acumulación de células inmunoreactivas para citokeratina 18 y ESA). Estudios morfológicos (microscopía de fase e inmunofluorescencia), mostraron que MCF-7 pierde su patrón de organización epitelial (clusters), creciendo en forma aislada, sin contactos intercelulares. En estas condiciones, se detectó (inmunofluorescencia y citometría de flujo), una baja expresión de las moléculas de adhesión epitelial E-cadherina y antígeno epitelio-específico. Estos resultados sugieren que las CPM, a diferencia de otros estromas (médula ósea de largo-término y tejido mamario), es un sitio no solo apropiado para adhesión y proliferación de células tumorales, sino que además modula la expresión de moléculas de adhesión. Estos cambios pueden tener un impacto en las propiedades invasivas de la célula tumoral, modificando la situación de micro a macrometástasis.
Apoyo financiero: Fondecyt (8970028) y ICGEB (CRP-CHI97-01(a1).

P-103 **PATRON DE DISTRIBUCION SUBCELULAR DE DMAP-85 EN FIBROBLASTOS EN CULTIVO** (Subcellular distribution of DMAP-85 in fibroblast cells). Montecinos, L. y González, M. Laboratorio de Biología Celular. INTA. Universidad de Chile.

La proteína DMAP-85 ha sido reportada como una proteína asociada a estructuras del citoesqueleto de *D. melanogaster*. Con el propósito de analizar la función *in vivo* de DMAP-85 se ha estudiado su distribución subcelular y su patrón de asociación con proteínas del citoesqueleto, mediante ensayos de transfección en fibroblastos en cultivo.
Para esto, el cDNA de DMAP-85 fue clonado en el vector de expresión en eucariontes pEGFP, el cual expresa una proteína de fusión fluorescente en el extremo amino terminal (DMAP-85GFP).
Transfecciones transientes con este vector en fibroblastos de ratón NIH 3T3, analizadas *in vivo* mediante microscopía de fluorescencia, señalan una distribución claramente citoplasmática de DAMP-85GFP asociada a elementos estructurados, con un patrón punteado y de mayor intensidad en la zona perinuclear y bordes de la célula. Este mismo tipo de distribución se ha observado en cultivos primarios de fibroblastos humanos, que expresan DMAP-85GFP. El análisis mediante inmunohistoquímica de células transfectadas y permeabilizadas utilizando anticuerpos contra tubulina, tubulina acetilada y actina, indica: a) la presencia de DMAP-85GFP en lamelipodios y filopodios, donde la proteína co-distribuye con actina, b) una marcada colocalización de DMAP-85GFP con una subpoblación microtúbulos perinucleares y c) que DMAP-85GFP no segrega con poblaciones de microfilamentos o microtúbulos estabilizados con faloidina o taxol. En experimentos en progreso, se evalúa la cinética de aparición de DMAP-85GFP en estas estructuras mencionadas en a y b y su asociación *in vitro* con actina y tubulina mediante inmunoprecipitaciones en los extractos de células transfectadas.
(Financiamiento: Proyectos FONDECYT 1980262 y 3970009)

P-104 **FUNCIONES REGULADORAS DE TAU EN LA MORFOGENESIS NEURONAL** (Regulatory roles of tau in neuronal morphogenesis). Hernández, P, Muñoz, J.P.and Maccioni, R.B. Lab. Biología Celular y Molecular, Facultad Ciencias, Universidad de Chile.

La organización del citoesqueleto es sensible al efecto de señales reguladoras que operan espacial y temporalmente. En neuronas en diferenciación, la regulación de la citoarquitectura es especialmente relevante, y la tau juega un papel clave en la estabilización de subpoblaciones de microtúbulos y en la extensión de neuritas. Tau está directamente involucrada en la determinación de la polaridad neuronal. Hemos utilizado células de neuroblastoma N2A como modelo para investigar la regulación del citoesqueleto en la neuritogénesis inducida por cAMP y laminina. Durante la extensión de neuritas observamos cambios en los patrones de fosforilación de tau, asociados a la organización del citoesqueleto, determinantes para la morfogénesis neuronal. Los estudios indican que el papel de tau en modular el citoesqueleto neuronal depende principalmente de fosforilaciones en epitopos claves como las producidas por el sistema proteína quinasa cdk5. Laminina es uno de los factores que induce la expresión de cdk5/p35. La secuencia de eventos celulares y moleculares durante la neuritogénesis fue analizada mediante estudios morfogenéticos y análisis de la expresión génica en células controles y tratadas con cAMP utilizando *microarrays* de cDNA que contienen secuencias de 588 genes de ratón. Estos estudios han permitido obtener una visión global de la expresión diferencial de factores reguladores durante la neuritogénesis.
(Financiado por Cátedra Presidencial en Ciencia, DID Universidad de Chile y Fondecyt 1990002).

P-105 **DISTRIBUCION DEL ANTIGENO ASOCIADO A MELANOMA, RECEPTOR MELACORTINA 1 (MC1R) EN MELANOMAS Y OTROS TEJIDOS.** (Distribution of the melanoma-asociated antigen Melanocortin receptor 1 (MC1R) in melanomas and other tissues). Alejandro Escobar, Mercedes López, Flavio Salazar. Programa de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Independencia 1027

Varios antígenos asociados a melanoma (MAA), reconocidos por Linfocitos T citóxicos (LTC) han sido identificados. Uno de ellos es el Receptor de Melanocortina 1 (MC1R) que se expresa en melanomas y melanocitos. MC1R es el ligando natural de la hormona peptídica melanocito estimulante α (MSH-α), involucrada en la proliferación, diferenciación, pigmentación y potencial metastásico de los melanomas. Aunque esta evidencia indica que MC1R tiene una amplia distribución, estos estudios se basaron fundamentalmente en métodos cualitativos. Se pretende estudiar y cuantificar los niveles de expresión de MC1R en distintos tejidos. Postulamos que MC1R se expresaría en mayores concentraciones en melanomas que en tejidos normales, lo que permitiría el reconocimiento del tumor por el sistema inmune. El receptor MC1R analizado por FACS, fue detectado en un 80% de las líneas celulares de melanoma pero no en otras líneas celulares tumorales y su ubicación es intracelular. La Inmunohistoquímica reveló una fuerte expresión de MC1R en 100% (n=10) de los melanomas primarios y metastizados (n=9), en 100% de melanomas oculares primarios (n=4) y por el contrario una no expresión en nevis pigmentados. Estos resultados parecen indicar que existe una sobre-expresión de MC1R en melanomas tanto primarios como metastizados, suficientemente alta para permitir una "ventana terapeútica" que puede ser explorada en futuras inmunoterapias.

P-106 **UN NUEVO TIPO DE AFECCION DE LA BIOGENESIS PEROXISOMAL. ANALISIS MEDIANTE MICROSCOPIA LASER CONFOCAL Y ELECTRONICA.** (A new peroxisomal biogenesis defect. A confocal laser microscopy and electron microscopy study). Toro A., Araya, C., Cárdenas, H., Koenig, C., Santos, M.Fac. Cs. Biológicas, U. Católica de Chile. Fac. de Química y Biología, Universidad de Santiago. Financiado por FONDECYT 1980978

La biogénesis peroxisomal establece que éstos se generarian mediante el crecimiento y división de organelos preexistentes. A ellos se incorporarían posttraduccionalmente proteínas de matriz y de membrana (PMPs), que contienen secuencias de destinación peroxisomal (PTS]
En un paciente chileno, con el diagnóstico clinico de Sindrome de Zellweger, reportamos un nuevo fenotipo peroxisomal. Mediante el uso de inmunofluorescencia con microscopía láser confocal y de microscopía electrónica, en los fibroblastos de piel del paciente, encontramos que las proteínas de matriz, catalasa y tiolasa, se encuentran localizadas erróneamente en el citoplasma. No detectamos fantasmas peroxisamales típicos (organelos esféricos sin el contenido de proteínas de matriz). Sin embargo, las PMPs de 70 y 53 kDa se localizaron en estructuras tubulares sedimentables. Ellas no mostraron colocalización con lisosomas, mitocondrias, microtúbulos, aparato de Golgi y retículo endoplásmico (RE). Sin embargo, a nivel de microscopía electrónica se pudieron localizar PMPs en ciertas regiones del RE, el que además estaba distendido. Estos resultados permiten concluir que el paciente presenta un defecto en la importación de proteínas de matriz. Los hallazgos relacionados con el RE sugieren la existencia de una vía alternativa en la biogénesis peroxisomal, que involucraría síntesis *do novo*.

P-107 **EVIDENCIAS PARA UNA NUEVA FORMA DEL RECEPTOR V2 DE VASOPRESINA DE RIÑON DE RATA ORIGINADA POR EMPALME ALTERNATIVO.** (Evidence for new form of the rat renal V2 vasopressin receptor originated by alternative splicing). Sarmiento J. Instituto de Fisiología, Universidad Austral de Chile, Valdivia. (patrocinado por Dr. Carlos B. González).

El receptor V2 renal regula el balance hidroelectrolítico del organismo. Este receptor esta codificado en un solo gen que contiene tres exones y dos intrones. Se han descrito dos formas del receptor que se generan por empalme alternativo del tercer exón. En el presente trabajo presentamos evidencias para la existencia de una tercera forma que se genera por empalme alternativo del segundo exón y que además presenta el empalme alternativo ya descrito en el tercer exón. Utilizando RNA total de riñón de rata se amplificó por RT-PCR un único producto que fue secuenciado en ambos sentidos obteniéndose un cDNA de 1048pb. El alineamiento de la secuencia mostró un 99.4 % de identidad con el cDNA ya descrito. Además mostró que el empalme en el segundo exón se realizó 28 pb río abajo. La traducción de este cDNA reveló una secuencia aminoacídica totalmente diferente en el primer exón sin la presencia de un codon de inicio, faltando 9 aminoácidos del segundo exón y siendo la parte restante idéntica a la descrita como forma corta y menos abundante del receptor. Esto sugiere que podría existir un sitio de inicio distinto río arriba del descrito, dando origen a una nueva forma del receptor V2.
Financiado por DIUACH y Fondecyt 8980002.

P-108 **ANALISIS GENETICO DE UNA PROTEINA ASOCIADA A MICROTUBULOS DE *Drosophila melanogaster*.** (Genetic analysis of a *Drosophila* Microtubule-associated protein). Pottstock, H. y Cambiazo, V. Laboratorio de Biología Celular, INTA-Universidad de Chile.

La proteína DMAP-85, es una proteína asociada a microtúbulos (MAPs) de *D. melanogaster*. DMAP-85 comparte con las MAPs de mamíferos la capacidad de promover el ensamblaje de los microtúbulos (MTs), a través de su interacción con dominios específicos de la β-tubulina, esto sugiere que DMAP-85 sería un elemento regulador de la organización y del estado de ensamblaje de los MTs *in vivo*. Usando métodos de genética, hemos iniciado el análisis de la función de DMAP-85. Considerando la localización cromosómica del gen *dmap-85* (región 63C1-6) hemos seleccionado 3 cepas mutantes, portadoras de inserciones de elementos de transposición (*PlacW*) en esta región. En cada cepa, las secuencias genómicas adyacentes a los respectivos elementos *PlacW* fueron obtenidas mediante PCR inverso y/o mediante el rescate de un vector contenido en el elemento-P. Este análisis fue complementado con la secuenciación de las regiones anexas al elemento *PlacW*. Los resultados indican que una de las cepas de *D. melanogaster*, denominada P2064, contiene secuencias del gen *dmap-85* situadas en ambos extremos del elemento *PlacW*.
Además, hemos establecido que, en homocigosis, esta mutación en el gen de *dmap-85* es letal en el estado de larva 3, siendo posible recuperar embriones tardíos y larvas de estado 1. En experimentos en progreso planeamos analizar, en estos diferentes estados de desarrollo, el efecto de esta mutación en la morfología celular y en la organización del citoesqueleto microtubular.
Financiamiento: Fondecyt 1980262.

PANELES II
FISIOLOGIA

P-109 **DINAMICA MOLECULAR DEL PEPTIDO AMILOIDE: REPRESENTA EL AUMENTO DE LAS TRANSICIONES CONFORMACIONALES UN COMPORTAMIENTO DINAMICO INHERENTE?** (Molecular Dynamics of amyloid peptide : enhanced conformational transitions as inherent dynamic behavior ?) Canales, M. Laboratorio de Biofísica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepcion, Barrio Universitario, Concepcion, Chile. mcanale@ udec.cl (Patrocinio: E.O. Campos).

Recientemente se realizó el modelaje molecular del péptido ß-amiloide (1-40) basado en la homología (21%) con triosafosfato isomerasa (TIM). La similitud estructural se comprobó con un péptido sintetizado químicamente (residuos 191-212 de acuerdo a la secuencia y numeración de TIM), el cual resultó con similares propiedades de agregación e idénticas características de formación de fibras que el péptido amiloide (Protein Engineering, en prensa). Con este modelo se investigó el comportamiento dinámico de tres sistemas hipotéticos: 1. un modelo del péptido in vacuo, 2. el modelo del péptido hidratado y 3. un dímero hidratado. Simulaciones de dinámica molecular fueron realizadas usando AMBER 4.1 en una SGI Indy SC4400. El análisis de datos, para trayectorias de 100, 120 y 105 ps de simulación, se realizó con InsigthII y DeciPher 95.0 e incluyó el seguimiento de los ángulos dihedros PHI y PSI de todos los residuos, la longitud de ejes axiales en la hebra extendida (segmento CA31-CA37), la región helicoidal (segmento CA10-CA23) y también de las distancias que separan los ejes. La estructura secundaria del péptido se conservo en mayor medida en los sistemas hidratados. Residuos específicos experimentaron transiciones conformacionales tanto en el monómero como en el dímero apareciendo claramente aumentadas en los ángulos PSI. Las mayores transiciones en magnitud y extensión en el tiempo se observaron en el dímero a diferencia de lo esperado en el monómero. En el dímero hidratado se observó una mayor tendencia a adoptar estructuras tanto aleatorias como extendidas en residuos de regiones helicoidales (13-21 y 53-61). Ello sugiere una transición conformacional inherente en residuos específicos del péptido amiloide bajo las condiciones de simulación.
Financiado a través del Proyecto FONDECYT 1971240 y Cátedra Presidencial en Ciencias al Dr. Nibaldo C. Inestrosa.

P-110 **UNA APROXIMACION A LA SOLUCION DE DEMANDA DE ENERGIA ELECTRICA USANDO OPTIMIZACION DE ENERGIA MOLECULAR.** (An approach to the solution of the electric power requirement using molecular energy minimization) Mario Lillo*, Claudio Roa* y Mauricio Canales§.* Departamento de Ingeniería Eléctrica, Facultad de Ingeniería, § Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Barrio Universitario, Concepción, Chile.

La generación, transmisión y distribución de la energía eléctrica, exige un máximo aprovechamiento de la energía eléctrica a un mínimo costo.En la generación de energía eléctrica, son dos los problemas más recurrentes: 1. del total de unidades de un parque generador, cuales de ellas deben ser consideradas para cubrir la demanda de energía en un período determinado de tiempo. 2. De las unidades elegidas para cubrir dicha demanda, cuanto debe generar cada una de ellas. A 1. se le conoce con el nombre de "Predespacho de Unidades", mientras que 2. se denomina "Despacho de Carga" y requiere la solución previa de 1. Las primeras soluciones propuestas al problema del predespacho de unidades se basaban en comportamientos históricos de las unidades generadoras. En base a este conocimiento se procesaban listas de prioridades que entregan una solución no siempre cercana a cumplir la exigencia de máximo aprovechamiento de la energía eléctrica a un mínimo costo. La aplicación de métodos Heurísticos, es decir, la evaluación de todas las combinaciones posibles de solución eligiendo la de menor costo ha entregado una solución parcial al problema ya que su empleo trae como consecuencia un alto costo computacional. En la actualidad, las restricciones entregadas por la legislación nacional exigen además reducir los niveles de emisión, para el caso de unidades termoeléctricas, que son consideradas externalidades negativas inherentes al proceso de generación. El presente trabajo pretende dar solución al problema del predespacho de unidades con consideraciones ambientales y técnicas mediante una herramienta que imita la optimización geométrica de las moléculas para alcanzar su estado de mínimo consumo de energía. Para la adaptación de este concepto al problema de predespacho, se define un modelo físico de molécula que representa la unidad generadora. Las posiciones a considerar para cada unidad serán las reales del sistema a estudiar. Como una aproximación inicial a la solución del problema presentado se plantea un análisis de la incidencia que presenta la variación de la distancia, en un sistema de n moléculas (o unidades), sobre las ecuaciones de van der Waals y Electrostáticas. Se proponen modelos para las ecuaciones basados en la posición espacial (X,Y,Z) de cada molécula y estudios de sensibilidad ante las variaciones de la posición de las moléculas en los distintos ejes coordenados.
(Este trabajo ha sido desarrollado en el curso de postgrado Biología Computacional Avanzada)

P-111 **TRANSPORTE DE L-ARGININA EN ERITROCITOS DE PACIENTES ADICTOS A COCAINA** (L-Arginine transport in erythrocytes from cocaine addicts).
Carvacho, I., Márquez, C., Cament, P., Neumann, V., Sobrevía, L. Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción.

Eritrocitos humanos poseen sistemas de transporte para L-arginina, describiéndose recientemente la presencia de sintasa de óxido nítrico (NO) en estas células. En falla renal crónica se ha observado un incremento del transporte de L-arginina y la síntesis de NO en eritrocitos humanos. Hay varios estudios que involucran al NO en los efectos de cocaína sobre el tono vascular. Sin embargo, no existen estudios relacionados con la acción directa de cocaína sobre un tipo particular de células vasculares. Por lo anterior, estudiamos el transporte de L-arginina en eritrocitos aislados de pacientes adictos a cocaína.
Muestras de sangre fueron obtenidas de sujetos normales (controles) o adictos a cocaína (DSM-IV, Asociación Americana Psiquiatría). Los eritrocitos fueron lavados con PBS (pH 7.4) e incubados 14 hrs (2.5% hematocrito, 30°C, PBS). Las células (10% hematocrito) fueron incubadas con L-[^{3}H]arginina (1 μCi/ml, 0-500 μM, 5 min, 37°C).
El transporte de L-arginina fue saturable con un Vmáx menor en sujetos adictos (4.8 ± 0.5 μmol/l/h) comparado con controles (21 ± 5 μmol/l/h), sin cambios en el Km. Este efecto fue revertido por D-glucosa (25 mM, 1 hr). Resultados preliminares muestran que el efecto de D-glucosa es inhibido por floretina (10 μM, 5 min), y simulado por 3-fosfogliceraldehído (300 μM, 1 hr) y D-fructosa (25 mM, 1 hr). Eritrocitos de sujetos adictos a cocaína exhiben alteraciones en los parámetros cinéticos del transporte de L-arginina, lo cual podría estar relacionado con el transporte y metabolismo de D-glucosa.
Proyectos FONDECYT 1971321 y DIUC 9733871

P-112 **EL SISTEMA y^+L ES RESPONSABLE DEL TRANSPORTE DE L-LISINA EN ERITROCITOS DE POLLO.** (System y^+L is responsible for the transport of L-lysine in chicken erythrocytes).
Vargas, M. y R. Devés. Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, U. de Chile.

Se investiga el transporte de aminoácidos catiónicos en eritrocitos de pollo con el objetivo principal de establecer a los eritrocitos nucleados como un modelo simple para la caracterización funcional de estos transportadores. Se demuestra que el transporte de lisina en estas células ocurre a través del sistema y^+L, un transportador para aminoácidos catiónicos y neutros cuya especificidad es modulada por cationes inorgánicos. No se detectó el sistema específico para aminoácidos catiónicos (sistema y^+). En presencia de Na^+, el transportador reconoce L-lisina y L-leucina con constantes de saturación media (K_m o K_i) de 33.5 ± 3.7 μM y 137 ± 12.7 μM, respectivamente; en K^+, el transporte de lisina no se modifica, pero la afinidad por L-leucina disminuye notablemente (K_i, 2.5 ± 0.16 mM). Por el contrario, el reemplazo de Na^+ por Li^+ aumenta la afinidad por leucina (K_i, 23.6 ± 2.4 μM). N-etilmaleimida (200 μM, 15 min), un inhibidor del sistema y^+, no afectó el flujo de lisina, mientras que pCMBS (75 μM, 10 min) que inactiva el sistema y^+L, redujo la velocidad (44%). El transportador de es más eficientemente en condiciones de intercambio; la velocidad de salida de lisina radiactiva aumentó ≈ 7 veces en presencia de (2mM) lisina, leucina o glutamina (no marcadas) en el medio externo.
Financiado por FONDECYT - 1980716.

P-113 **EVALUACION FISIOLOGICA Y BIOQUIMICA DE EQUINOS PREPARADOS PARA PRUEBA DE COMPETENCIA ECUESTRE.** (Physiology and biochemical evaluation from equines prepared for equestrian competition).
Merino, V., Islas, A., López-Rivero, J.L*., Quezada, M., Mora, G., Rojas, H., Flores, A., Gómez, H. Facultad Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción,Chile. *Facultad Veterinaria, Universidad de Córdoba, España. Patrocinio: R. Pérez.

La prueba completa de equitación requiere adiestramiento y acondicionamiento físico necesarios para realizar actividades musculares intensas y rápidas. En este trabajo se utilizaron 10 equinos fina sangre inglés y mestizos adultos sometidos a un test de evaluación en pista corriendo a 360, 420, 480 y 540 m/min durante 4 minutos cada vez, descansando 3 minutos entre cada etapa, determinándose frecuencias cardíaca y respiratoria, temperatura rectal, proteínas plásmáticas, volumen globular, enzimas LDH, AST y CPK y lactato, para cada velocidad, mensualmente, durante noventa días. El lactato se determinó utilizando un equipo Accus port. La frecuencia cardíaca se determinó durante la prueba utilizando un monitor cuyos electrodos se colocan bajo la silla del equino y un reloj cronómetro que lleva el jinete, analizándose posteriormente con un programa computacional. Se observó aumento significativo de las frecuencias respiratoria y cardíaca, volumen globular y ácido láctico, obteniéndose los mayores valores de éste a 540 m/minuto. Al terminar el período de entrenamiento disminuyó la lacticidemia lo que indicaría una favorable adaptación muscular. Se comprobó además, que el monitor cardíaco y el Accus port permiten evaluar en la pista la capacidad atlética de los equinos.
Financiado por FONDECYT 1990382.

P-114 **RECEPTORES β – ADRENERGICOS EN *Scartichthys gigas*, BAJO LOS EFECTOS DE HIPOXIA. ESTUDIO PRELIMINAR.**
Valdés De La Barra R[1], Soto G[1], Germack R[2], Leon-Velarde F[2], Brito J[1].. [1]Laboratorio de Fisiología de Altura, Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile. [2]Laboratoire Résponses cellulaires et fonctionnelles à l'hypoxie, EA 2363, Université Paris XIII, 93017 Bobogny, France.

Numerosos estudios en peces mencionan que en la respuesta cardiovascular frente a un stress de hipoxia (Hx), se presentan cambios en el sistema adrenergico, particularmente a nivel de los β – adrenoceptores, como agentes causales de las respuestas fisiológicas de adaptación.
Este estudio ha pretendido formular un modelo de estudio de β – receptores adrenergicos en peces, al mismo tiempo de evaluar los efectos de la hipoxia (50 - 70 Torr) durante un periodo de 10 días sobre individuos de *Scartichthys gigas*. Los resultados fueron comparados con igual número de parámetros para un grupo control (Cc.), (110 – 120 Torr). Para este caso en particular el trabajo se basó fundamentalmente en el análisis de los ventrículos de *S. gigas*, denotando en los valores de peso del ventrículo, que para el grupo Hx: 0.036 ± 0.018 mg, en comparación con el grupo Cc: 0.046 ± 0.020 mg (P> 0.05), considerando además el peso total de cada individuo; Hx: 80.3 ± 5 gr.; Cc: 59.9 ± 2gr. (P> 0.05). Para la determinación de la densidad de los receptores β - adrenergicos se utilizó la técnica de *Binding* como herramienta clave dentro del presenta estudio. Esta técnica trabaja en presencia de una molécula agonista, el [^{125}I]Iodocyanopindolol, y su contraparte antagonista, el Propranolol [10^{-2} M].
Como resultado, los valores de Bmax (cantidad de β – adrenoceptores) y Kd (afinidad de estos receptores frente al radioligando, para los grupos Hx: Bmax 869 ± 20 fmol/mg; Kd: 208 ± 17 pM (n=13), y para el grupo Cc: Bmax 239 ± 23 fmol/mg; Kd: 189 ± 14 (n=13), (P<0.05).
En conclusión, la inducción a hipoxia en *S.gigas* produce un aumento del número absoluto de β – adrenoceptores, resultado similar obtenido por otros autores en especies distintas. Por otra parte, no se presentaría una modificación del tamaño de la cavidad cardiaca de *S.gigas* .
FONDEF D97-11050 e INSERM/CONICYT 1998 - 1999

P-115 **POTENCIALES SOMATOSENSORIALES LUMBO-ESPINALES EN LA RATA *taiep* ANTES Y DESPUES DE LA APLICACION DE 4-AMINOPIRIDINA.** (Somatosensory lumbospinal evoked potentials after 4-AP in the myelin mutant *taiep* rat). Eguibar,J.R[1]., Morales,B[1]. y Benítez,J[2]. Instituto de Fisiología, B. Universidad Autónoma de Puebla, México y Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Chile. (Patrocinio: M.Roncagliolo).

La rata *taiep* es un mutante neurológico caracterizado por una mielinización anormal seguida de una desmielinización progresiva de su SNC. Los potenciales somatosensoriales (PESS) evocados a nivel espinal lumbar, se caracterizan por la presencia de 2 componentes negativos (N_1 y N_2). N1 correspondería al registro de potenciales periféricos y no presenta diferencias entre mutantes y controles. N_2, de origen central, y que correspondería a la sumatoria de la actividad postsináptica en médula, presenta una latencia significativamente mayor en *taiep*. Con el propósito de evaluar si tales diferencias dependen de un defecto en la transmisión sináptica, estudiamos los PESS bajo la acción de un bloqueador de canales de K^+, 4-aminopiridina (4-AP), como una forma de incrementar la excitabilidad neuronal y con ello la eficacia sináptica en la médula espinal de la rata *taiep*. Tras la administración *i.v.* de 1mg/Kg de 4-AP se observa un incremento significativo ($p<0.0001$; $t=-4.3$; $gl=29$) de la amplitud en ambos componentes y una reducción progresiva de la latencia de la onda N_2. Estos hallazgos muestran que la 4-AP puede revertir parcialmente las alteraciones producidas por la dismielinización de las terminales intraespinales en la rata *taiep* mutante mielínico. *Parcialmente financiado por los proyectos CONACyT-México 5221P-N y DGICSA-SEP convenio 97-01-21-001-134(JRE) y proyectos CONICYT-Chile, Fondecyt 1991004 y 7960085 (MRP).*

P-116 **REFLEJOS MONOSINAPTICOS Y POLISINAPTICOS EN LA MEDULA ESPINAL AISLADA DE RATAS NEONATAS MUTANTES *taiep*.** (Monosynaptic and polisynaptic reflexes in isolated spinal cord of neonatal myelin mutant *taiep* rats). Bonansco,C.[1], Fuenzalida,M.[2] y Roncagliolo,M.[2] Facultad de Ciencias, Universidad de Playa Ancha[1] y Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso[2].

Estudios preliminares en ratas *taiep* sugieren una reducción de la eficacia sináptica, asociada a los procesos que alteran la formación y mantención de mielina en el SNC del mutante. Con el propósito de evaluar la transmisión en sinápsis centrales se estudiaron, *in vitro*, los reflejos monosinápticos (RMS) y polisinápticos (RPS) en médulas aisladas obtenidas de ratas, controles y *taiep*, de 3 a 12 días de edad post-natal(P). Bajo perfusión continua, a 18ºC, se registró mediante electrodos de succión la actividad de las raíz ventral desencadenada por estimulación de la raíz dorsal ipsilateral. A intensidad máxima, las respuestas presentaron un primer componente de corta latencia, rápido y de gran amplitud (2.16±0.73 mV), correspondiente al potencial de acción compuesto desencadenado por activación monosináptica de las motoneuronas (RMS). Un segundo componente, de menor amplitud (0.6±0.2 mV) y de larga duración (>100 ms), representa la actividad polisináptica (RPS) del segmento estimulado. A partir de P7 se observaron diferencias en la morfología del RMS y la relación de amplitudes RPS/RMS resultó ser un 22% mayor en los mutantes que en los controles. La aparición de estas diferencias, que coinciden con el inicio del proceso de mielinización, podrían reflejar tempranas alteraciones en la dinámica de la transmisión sináptica.
Financiamiento: Conicyt-Fondecyt Proyecto 1991004.

P-117 **ANALISIS POR MICROSCOPIA CONFOCAL DE LA INVASION RAPIDA DE LA MUCOSA OVIDUCTAL HUMANA IN VITRO POR *Neisseria gonorrhoeae*.** (Confocal microscopy analysis of the fast invasion of the human oviductal mucosa *in vitro* by *Neisseria gonorrhoeae*). Fernandez, R.[1], Nelson, P.[1], Valdes, D.[1], Delgado, J.[2], Aguilera, J.[2], Massai, R.[3], Imarai, M.[1], Velasquez, L.[1], Cardenas, H.[1]. 1. Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología. 2. Servicio de Obstetricia y Ginecología, Hospital Félix Bulnes, Santiago, Chile. 3. Instituto Chileno de Medicina Reproductiva. Financiado por FONDECYT 1990137 y DICYT, USACh

En el pasado demostramos la internalización rápida (2 h) de bacterias fijadas por el epitelio oviductal, lo que nos llevó a reexaminar la invasión de la mucosa tubaria por *Neisseria gonorrhoeae* mediante microscopía confocal. Se obtuvieron segmentos de oviductos de pacientes sometidas a cirugía ginecológica por razones ajenas a este estudio, previo consentimiento informado y aprobación por el Comité de Etica de la USACh. Segmentos de 2 cm fueron perfundidos con suspensiones de gonococos, incubados entre 30 min y 4 h y posterormente fueron procesados para inmunohistoquímica. Las bacterias se detectaron utilizando un suero de conejo anti-gonococos y un segundo anticuerpo conjugado con isotiocianato de fluoresceína. Se observó adhesión e internalización de gonococos por células epiteliales en todos los tiempos examinados, con un máximo de adhesión e internalización a 1 y 2 h de incubación, respectivamente. La adhesión e internalización fueron parcialmente bloqueadas por heparina. Se concluye que la *Neisseria gonorrhoeae* invade el epitelio oviductal desde los primeros minutos de exposición. Este proceso sería parcialmente mediado por proteoglicanos de heparán sulfato.

P-118 **EXPRESION FUNCIONAL DE MUTANTES DE LA SUBUNIDAD B1 DEL CANAL DE SODIO.** (Functional expression of sodium channel β1 subunit mutants). Guerrero, N. y Arrisi, P. (Laboratorio de Biología Molecular, INTA, y Programa Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). (Patricinio: Canelo, E.)

El canal de Na+ activado por potencial expresado en músculo esquelético humano adulto consta de dos subunidades, α y β1. La subunidad principal α forma el poro de conducción; a la subunidad accesoria β1 se le asigna la función de chaperona en el ensamblaje del canal y además, de moduladora de la cinética de inactivación de la corriente. Abordamos la identificación de los determinantes moleculares de la interacción entre las subunidades del canal. Se contruyó un conjunto de mutantes de la subunidad β1 destinadas a evaluar tanto su efecto en la asociación con la subunidad α como en la cinética de la corriente de Na+. Las mutaciones consistieron en la supresión de segmentos de distinta extensión en los dominios de la proteína presuntamente responsables de las funciones descritas. Los transcritos para las subunidades α y β1, sintetizados *in vitro*, fueron coinyectados en ovocitos de *Xenopus leavis* y las corrientes expresadas fueron registradas mediante la técnica de fijación del potencial con dos electrodos. Los resultados de la expresión funcional indican que algunas mutaciones suprimen completamente su función moduladora de la cinética de la corriente; otras, no tienen efecto funcional y algunas, confieren propiedades distintas de aquellas de la subunidad β1 silvestre.
Financiamiento: Fondecyt 1970363, IR: Cecilia Rojas

P-119 **INCORPORACION DE PEPTIDOS AMILOIDOGENICOS A BICAPAS DE FOSFOLIPIDOS ACIDICOS.** (Incorporation of amyloidogenic peptides into acidic phospholipid bilayer membranes) Hermosilla, T.,Morales, P. y Rojas, E. Laboratorio Neuroendocrino, Programa de Morfología. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.
Patrocinio: Paola Morales.

Amilina y amiloide son péptidos de 37 y 40-43 aminoácidos asociados a enfermedades amiloidogénicas responsables de la Diabetes mellitus de tipo II y la Enfermedad de Alzheimer, respectivamente. El análisis estructural de estos péptidos presupone su incorporación a membranas biológicas, lo cual podría evidenciar un mecanismo de acción común durante el desarrollo de la enfermedad.
La incorporación de la amilina fue demostrada por el análisis de las corrientes de desplazamiento transitorias en bicapas planas de Palmitoil-Oleoil-Fosfatidil-Etanolamina (POPE) y detección fluorimétrica de la entrada de Ca^{2+} (fluorescencia del indo-1) a liposomas unilamelares gigantes de Palmitoil-Oleoil-Fosfatidil-Serina (POPS). Además, la incorporación del amiloide beta [1-40](AβP[1-40]) también fue determinada fluorimétricamente en liposomas unilamelares gigantes hechos de Fosfatidil-Inositol (PI).
Los resultados indican que la amilina humana incrementa la carga desplazada en la bicapa y que ésta, a diferencia de la de rata, fue capaz de mediar la entrada de Ca^{2+} a liposomas de POPS. Así mismo, el péptido AβP[1-40] permitió la entrada de Ca^{2+} a liposomas de PI.
En conjunto, estos resultados sustentan la hipótesis de un mecanismo común de acción de estos péptidos. Además, la alteración de la respuesta colinérgica-muscarínica observada en la enfermedad de Alzheimer puede ser explicada por la incorporación a membranas celulares y posterior secuestro del PI por parte del péptido AβP[1-40] (Financiamiento: Cátedra Presidencial 1996 a E.R.).

P-120 **INTERACCION DE LA DROGA ANTICANCEROSA CISPLATINO CON MEMBRANAS CELULARES.** (Interaction of the anticancer drug cisplatin with cell membranes) Hernández, P., Suwalsky, M.* y Sotomayor, C.. Facultad de Ciencias Básicas y Matemáticas, Universidad Católica de Valparaíso y *Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Concepción

Cisplatino es una droga anticancerosa ampliamente usada en el tratamiento del cáncer. Su acción involucra interacciones con el ADN, proteínas y lípidos. Las interacciones con los lípidos son particularmente importantes debido a que uno de los más serios efectos colaterales es su nefrotoxicidad, atribuída a la interacción de fosfolípidos y aminoglucósidos. Con el fin de aclarar los mecanismos moleculares de su acción tóxica asi como su actividad antitumoral, se estudió su interacción con membranas naturales y modelos de membranas a través de diferentes técnicas. Una de ellas consistió en la observación de las alteraciones morfológicas de eritrocitos humanos incubados con cisplatino mediante microscopía electrónica de barrido. Los resultados obtenidos fueron interpretados a través de análisis de difracción rayos X en multicapas constituidas de fosfatidilcolinas, fosfatidiletanolaminas y fosfatidilserinas, y por espectroscopía de fluorescencia en vesículas unilamelares grandes de fosfatidilcolina. Los resultados obtenidos permitieron postular mecanismos de acción del cisplatino a nivel de membanas celulares.
Agradecimientos: Proyectos FONDECYT (1960680 y 1990289) y DIUC (98.24.19-1).

P-121 **TRANSPORTE DE L-ARGININA EN ENDOTELIO FETAL HUMANO DE GESTACIONES NORMOTENSAS Y PREECLAMPTICAS SEVERAS.** (L-Arginine transport in human fetal endothelium from normotensive and severe preclamptic pregnancies). Carrasco, G., Domínguez, A., Cruz, M.A., Miguel, P., Gallardo, V., González, C. Departamento de Fisiología, Universidad de Concepción.

En preeclampsia se ha descrito la disminución de la síntesis y acciones del sistema L-Arginina(L-Arg)/Oxido Nítrico(NO) por la célula endotelial. Sin embargo, no existen estudios del transporte de L-Arg, sustrato para la generación de NO, en el endotelio preeclámptico. Este estudio describe el transporte de L-Arg en células aisladas de endotelio de vena umbilical humana (HUVEC) de gestaciones normotensas (GN, n=16) y preeclámpticas severas (PES, n=9) de término. Células endoteliales en pasaje 2 fueron cultivadas en Medio 199, suplementado con 10% de suero bovino fetal y 10% suero de neonato, 5 mM L-glutamina y 5 mM D-glucosa. En HUVEC de GN fue posible describir dos sistemas de transporte para L-Arginina: Uno de alta afinidad (Km1=1.98±0.12 μM y Vmax1= 0.42±0.09 pmol/μg protein*min) y otro de baja afinidad (Km2=112±8.54μM y Vmax2=4.98±0.66 pmol/μg protein*min). Estos valores no se diferenciaron estadísticamente de los obtenidos en HUVEC de PES (Km1=2.24±0.28 μM y Vmax1=0.37±0.06 pmol/μg protein*min; Km2=105.4±4.3 μM y Vmax2=5.36±0.22 pmol/μg protein*min).
Debido a que no fue posible observar diferencias cinéticas en ambos sistemas, nuestros resultados sugieren que las posibles alteraciones en la síntesis y acciones del NO en la preeclampsia, no estárian relacionadas con la disponibilidad de L-Arg por la NO endotelial.
FONDECYT 2970098 and 1980132. G.Carrasco es becario Doctorado CONICYT (gcarrasc@udec.cl)

P-122 **EL INFLUJO DE SODIO A TRAVES DE CANALES CATIONICOS NO-SELECTIVOS COMO MECANISMO EFECTOR DE MUERTE CELULAR NECROTICA** (Sodium influx via non-selective cation channels as an effector mechanism of cell necrosis). Calixto, A., Catalán, M., Castro, J. Stutzin, A. y Barros, L.F. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia 1027, Santiago, Chile.

La necrosis ha sido descrita como un tipo de muerte celular abrupta y no programada, en oposición a la apoptosis, muerte celular asociada a la activación de mediadores específicos. En este trabajo se propone al influjo de sodio a través de canales catiónicos no-selectivos como un mecanismo específico y necesario para la necrosis inducida por estrés oxidativo en las células epiteliales hepáticas Clone 9.
La exposición de células Clone 9 a los dadores de radicales libres calfostina C (500 nM) y menadiona (50 μM) se asoció al aumento rápido (<3 min) de la probabilidad de apertura del canal catiónico no-selectivo (18 pS) sensible a flufenamato. El bloqueo de estos canales con ácido flufenámico (100 μM) y de los canales no-selectivos sensibles a estiramiento (SACs) con Gd^{3+} (10 μM), protegió (%) estas células de la necrosis inducida por calfostina C (93 ± 1[4] y 91 ± 5[4], respectivamente) y menadiona (59 ± 2[3] y 53 ± 1[3], respectivamente). La substitución isosmótica del sodio extracelular por NMDG protegió (%) contra la necrosis inducida por calfostina C (84 ± 3[4]) y menadiona (90 ± 8[2]). El acido flufenámico, el Gd^{3+} y el reemplazo del Na^+ se asociaron a una inhibición (%) del hinchamiento celular (85 ± 12[8], 93 ± 6[8] y 90 ± 6[8], respectivamente). El ácido flufenamico y el Gd^{3+} también inhibieron la tasa de sobrecarga de calcio citosólico (90 ± 8[4], 95 ± 6[4], respectivamente).
Estos datos permiten proponer un modelo en el cual estos canales, ubicuos pero inactivos en células viables, se activan bajo condiciones de estrés oxidativo, participando en un circuito autoamplificado de disturbios metabólicos que conducen a las células epiteliales a la muerte celular por necrosis.
Financiado por Fondecyts 1990782 y 1980718. AC es becaria Conicyt.

P-123 **INJURIA OXIDATIVA INTESTINAL Y TRANSLOCACION BACTERIANA EN RATAS SOMETIDAS A SHOCK POR TORNIQUETE.** (Intestinal oxidative injury and bacterial translocation in rats subject to tourniquet shock)
Maldonado M.E*, Manríquez V.*, Domínguez M.$, Roa J.#, Muñoz R.*, Vega V.*, Mardones L.*, Vivaldi E.* and Ward P.H.# Dpto Fisiopatología*, Microbiología$ y Fisiología#. Fac. Cs. Biológicas Universidad Concepción. mmaldona@udec.cl

Ratas sometidas a torniquetes desarrollan un estado de shock seguido del Síndrome de Disfunción orgánica Múltiple (SDOM). El objetivo. de este trabajo fue analizar el estrés oxidativo intestinal y la eventual alteración de la permeabilidad intestinal en ratas sometidas a shock por torniquete. Con este propósito se analizó en mucosa intestinal las sustancias que reaccionan con ácido tiobarbitúrico (TBARS), el glutatión reducido (GSH) y oxidado (GSSG), el nivel de superóxido dismutasa (SOD), el grado de lesiones, la presencia de bacterias en órganos extraintestinales y de endotoxina mediante el Test del Limulus. Nuestros resultados muestran estrés oxidativo intestinal, a las 2 y 17 hrs de liberados los torniquetes, caracterizado por: a) aumento de los TBARS, b) disminución del GSH y aumento del GSSG, c) aumento de la SOD. Este estrés oxidativo se asoció a lesiones duodenales, cultivos bacteriológicos positivos en ganglios linfáticos mesentéricos y a presencia de endotoxina en sangre portal. La administración previa de alopurinol, un inhibidor de xantino oxidasa, disminuyó significativamente tanto el estrés oxidativo como las lesiones intestinales. Estos resultados permiten concluir que durante el shock por torniquete existe estrés oxidativo intestinal y contribuye a la translocación bacteriana y al SDOM.
PI 97.034.01-1

P-124 **SERPINA CBG EN CELULAS ESTROMALES OVARICAS HUMANAS Y OTRAS ESPECIES MAMIFERAS.** (CBG serpin in ovaric stromal cells from human and other mammal species).
Peña, P.; Vásquez, B.; Vasconcellos, A.; (*)Veuthey, C.; Sánchez, R. y (**)Miska, W. Fac. Med. Univ. de La Frontera, Temuco. (*)Univ. Católica de Temuco. (**)JL Univ. Giessen, Alemania.

El complejo Corticosteroid binding globuline-progesterona (CBG-P), aislada del fluido folicular humano es responsable del efecto inductor de la reacción acrosomal(RA) en espermatozoides aislados. Se ha reportado su síntesis en Cummulus oophorus(CO), granulosa(G), en células secretoras del epitelio oviductal humano, —jugando en esta última estructura un importante rol en la modulación de la RA—, y en hígado (forma sérica). El objetivo del presente trabajo fue rastrear con inmunocitoquímica(ICQ) para CBG ovarios(Ov) humanos y de otras especies mamíferas. Muestras de Ov de: mujeres (necrópsias); bovinos (matadero); perros, gatos, conejos y ratas (ovariectomías) fueron fijados en Methacarn e incluidos en Paraplast. A cortes seriados se les realizó la ICQ por el método del PAP. El Ac específico fue mono ó policlonal(-) CBG humana. Los resultados revelaron selectivamente células intensamente inmunopositivas a CBG, además de CO y G(control), en ciertos tipos celulares distribuidos en el estroma ovárico de todas las especies mamíferas estudiadas. Este hecho revela un componente funcional nuevo, distinto al sobre la RA, en el rol que podría jugar esta molécula en los procesos reproductivos. El ovario es fuente de producción de estrógenos y progesterona, la CBG ovárica podría ser su transportador a otras regiones específicas del sistema reproductor.
Financiado por DIDUFRO 9735, 9820 y DFG-GTZ-93.2157.1-06.100.

P-125 **CULTIVO IN VITRO DE CELULAS OVIDUCTALES SECRETORAS DE BOVINO.** (In vitro culture of bovine oviductal secretory cells).
Risopatrón* J., Peña, P., Sepúlveda, N., Sánchez, R., Alvarez, A. & Parra, R. Facultades de Medicina y Agronomia. Universidad de La Frontera, Casilla 54-D, Temuco, Chile.

El co-cultivo in vitro con células oviductales secretoras (COS), ha mostrado un incremento en las tazas de fecundación in vitro (FIV). Este efecto estaría dado por secreciones de COS, en donde se ha descrito la presencia de progesterona y recientemente corticosteroid binding globulin (CBG). El objetivo del presente estudio fue comparar el efecto de la suplementación con suero fetal (SF) y albúmina sérica (BSA) bovina en dos medios de cultivos, sobre el crecimiento y desarrollo de COS in vitro. para FIV.
COS fueron cultivadas en TCM-199 y Sp-TALP, suplementados con 10% de FS o 6 mg/ml de BSA, distribuidos en 4 grupos; 1) TCM-I99+FS, 2) TCM+BSA, 3) SpTALP+FS, 4) Sp-TALP+BSA, durante 5 dias a 37°C, 5% de C02 y 95% de humedad. Se evaluó: desarrollo celular (monocapas-DCM), movimiento ciliar y viabilidad de las células.
Los cultivos con SF (TCM-I99 y Sp- TALP) presentaron formación de DCM y células ciliadas, y una viabilidad celular de un 95% vs un 60%. Sin embargo en los cultivos con BSA no presentaron DCM, la viabilidad fue de un 5% vs 2%, respectivamente. El medio TCM-I99 con 10% de SF resultó ser más óptimo para el desarrollo y proliferación de COS de bovino cultivadas in vitro.

PANELES II
BIOLOGIA MOLECULAR

P-126 **UN GEN HOMOLOGO AL GEN *yegE* DE *Escherichia coli* REGULA LA SINTESIS DEL ANTIGENO O DEL LIPOPOLISACARIDO DE *Salmonella typhi*.** (A homologue of the *Escherichia coli* gene *yegE* regulates the biosynthesis of lipopolysaccharide O-Antigen in *Salmonella typhi*). Vinés, E. D., Contreras, I. y Youderian, P*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. *Department of Microbiology, University of Idaho. Patrocinio: Philip Youderian.

Para estudiar la regulacion de la biosíntesis del lipopolisacárido de *Salmonella typhi*, se aislaron mutantes rugosas de *S. typhi* Ty2, generadas por inserción del transposón MudJ. Una de las mutantes, MEI028, mostró un fenotipo rugoso a 28°C y 37°C, en presencia y ausencia de oxígeno. El sitio de la insercion de MudJ fue clonado y secuenciado. La secuencia mostró un 84% de identidad con el gen *yegE* de *E. coli*, que codifica una putativa histidina quinasa. Para determinar que el fenotipo rugoso de la mutante no se debiera a una mutación secundaria a la inserción de MudJ, el gen *yegE* de *S. typhi* completo fue amplificado, clonado en un vector plasmidial y electroporado en la mutante MEI028. La incorporación del gen *yegE* intacto permitió el rescate de la mutación, indicando que el fenotipo de la cepa MEI028 se debía efectivamente a la inserción de MudJ. Los resultados sugieren que el producto de *yegE* está involucrado en la síntesis o ensamblaje del antígeno O en *S. typhi*, y que su expresión está modulada por condiciones ambientales de temperatura y disponibilidad de oxígeno.
Financiamiento: Fondecyt 1990967

P-127 **GENES DE POLISACARIDOS CAPSULARES PARTICIPAN EN LA BIOSINTESIS DEL LIPOPOLISACARIDO EN *Salmonella typhi*.** (Capsular polysaccharide genes are involved in lipopolysaccharide biosynthesis in *Salmonella typhi*). Bittner, W., Saldías, S., Rojas, G., Zaldívar, M. y Contreras, I. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.
Los lipopolisacáridos (LPS) y exopolisacáridos, principales antígenos bacterianos de superficie, presentan gran variabilidad en respuesta a las condiciones químicas y físicas del ambiente. Los mecanismos moleculares que explican esta variabilidad son desconocidos. Nuestro interés se ha centrado en la regulación de la biosíntesis del LPS en *Salmonella typhi*. Con este objeto, aislamos mutantes en el LPS mediante mutagénesis con el transposón MudJ. Se caracterizó una mutante incapaz de sintetizar antígeno O en distintas condiciones de temperatura y disponibilidad de oxígeno. Se clonó el sitio de inserción de MudJ y se secuenció el DNA adyacente. La secuencia mostró un 98% de identidad con el gen *cpsG* de *S. typhimurium*, que codifica una fosfomanomutasa para la síntesis de GDP-manosa. Este gen pertenece al "cluster" del ácido colánico, polisacárido capsular producido por enterobacterias. Mediante amplificación por PCR y análisis de Southern se detectó además un gen homólogo a *manB* de *S. typhimurium*, que codifica una fosfomanomutasa para la síntesis del antígeno O. Al complementar la mutante con el gen *cpsG*, se sintetizó sólo una unidad O, sugiriendo la participación de genes río abajo en la polimerización del antígeno O. Nuestros resultados indican que genes de polisacáridos capsulares estarían involucrados en la biosíntesis del LPS en *S. typhi*.
Financiamiento: Fondecyt 1990967.

P-128 ***Helicobacter pylori* Y QUIMIOTAXIS.** (*Helicobacter pylori* and chemotaxis). Toledo, H., Rivas, A. Programa de Biología Celular y Molecular. ICBM. Fac. de Medicina. U. de Chile.

Helicobacter pylori es un microorganismo bacilar, Gram negativo, microaerofílico que coloniza el estómago. La infección resulta en gastritis crónica que puede progresar a úlceras o neoplasma gástrico. Los mecanismos de la colonización no están claros, pero la motilidad resulta ser esencial para ello. Esta propiedad que *H. pylori* exhibe se debe a la presencia de un flagelo y a su forma espiral. Nos hemos interesado en estudiar la respuesta quimiotáctica de la bacteria, ya que esta podría guiarla en busca de nutrientes e impedir que la bacteria sea eliminada junto con la capa de mucina. Del mismo modo, la bacteria puede orientarse en busca de ambientes, cuyas condiciones de pH, le sean más favorable para su desarrollo y colonización de la mucosa gástrica. Para ello, utilizando la técnica del capilar descrita por Adler, hemos estudiado la respuesta quimiotáctica que presenta *H. pylori*. Así, hemos identificado algunas sustancias atractantes (aspartato, serina y urea) y repelentes (Ni^{2+}). Por otra parte, con el propósito de identificar el o los receptores para estas sustancias, hemos clonado el gen de la proteína aceptora de grupos metilos HP0099, a partir del DNA cromosomal de la cepa de *H. pylori* ATCC 43504, utilizando la técnica de PCR encontrándose que éste está interrumpido por una mini secuencia de inserción derivada de la secuencia de inserción IS605.
Financiado por Proyecto FONDECYT 1980721.

P-129 **PRESENCIA DE INTEGRONES EN CEPAS DE *Acinetobacter baumannii* RESISTENTES A CEFALOSPORINAS DE TERCERA GENERACION** (presence of integrons in strain of *Acinetobacter baumannii* resistance to cephalosporins of third generation). Ramírez, C., Pino, C., González, G.,Bello, H., Domínguez, M., Zemelman, R. Departamento de Microbiología, Facultad de Cs. Biológicas, Universidad de Concepción.

Acinetobacter baumannii es una cocobacilo Gram negativo no fermentador. Este patógeno oportunista es un importante agente etiológico en infecciones nosocomiales. Se ha observado que *A. baumannii* presenta una elevada resistencia a los antibióticos, entre ellos, los β-lactámicos. Esta propiedad, codificada generalmente en plásmidos, también ha sido asociada a la presencia de integrones. El objetivo de este trabajo es relacionar la presencia de los integrones con la resistencia a antibióticos β-lactámicos en cepas de *A. baumannii* resistentes a cefalosporinas de tercera generación.
Se analizaron 100 cepas de *A. baumannii* de distintos hospitales chilenos. Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) a cefalosporinas de tercera generación, mediante dilución seriada en caldo. Se investigó la presencia de integrones clase 1, 2 y 3 mediante hibridación en colonia, las que fueron confirmadas por PCR. Los resultados revelaron que 52% de las cepas fueron positivas para el integrón clase 1, 92% para la clase 2 y 52% para ambas clases. Sin embargo, a ninguna cepa se le detectó el integrón clase 3. Además, todas las cepas positivas para integrones mostraron una elevada resistencia a cefalosporinas de tercera generación.
Financiado por FONDECYT N°1970848

P-130 **OBTENCION DE BASES ESTEROIDALES PARA LA SINTESIS DE HORMONAS SEXUALES Y CORTICALES UTILIZANDO UNA RUTA MICROBIOLOGICA.** (Biotransformation of phytosterols to yield steroidal basis to produce sexual and cortical hormones) Vidal, M.,Mondaca, M.A., Becerra, J.[1] y Silva, M.[1]Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Microbiología. [1]Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Departamento de Botánica. Universidad de Concepción.

La síntesis química tradicional de hormonas es una ruta que involucra numerosos pasos y un alto costo. La alternativa microbiológica para este proceso presenta ventajas comparativas, ya que.disminuye considerablemente el número de etapas en la obtención de estos compuestos.
En este trabajo se estudiaron cepas de *Mycobacterium* sp. capaces de biotransformar fitosteroles obtenidos a partir de tall oil, a bases esteroidales que se utilizarán posteriormente para la síntesis de hormonas. Para los ensayos de biotransformación las cepas se cultivaron por siete días a 30 °C y 180 rpm con el sustrato como única fuente de carbono. La extracción de productos se realizó con metanol y el análisis se llevó a cabo mediante cromatografía de gas-líquido y gas-masa.
Utilizando altas concentraciones de sustrato se aumentó considerablemente el porcentaje de biotransformación de las cepas *Mycobacterium* sp. MB-3683 y *Mycobacterium fortuitum* B-11045. Los porcentajes de biotransformación totales aumentaron de un 20% a un 50%. Los productos obtenidos en mayor porcentaje fueron la androstenediona (AD) y androstadienediona (ADD).
Los resultados sugieren que con las cepas obtenidas se puede utilizar una mayor concentración de sustrato y al mismo tiempo aumentar la biotransformación, haciendo más rentable el proceso.
AGRADECIMIENTOS.Proyecto FONDEF D-96 1111, Laboratorios Recalcine y Dirección de Investigación Universidad de Concepción.

P-131 **ABUNDANCIA Y DIVERSIDAD MICROBIANA EN TRES HUMEDALES COSTEROS DE LA BAHIA DE COQUIMBO, IV REGION, CHILE** (Microbial abundance and diversity in three coastal wetlands of Coquimbo Bay, IV Region, Chile.) [2]Carvajal, N. [2]Peña, E. [1,2]Vergara, M. [1]Aguilera, LE. [1]Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena, [2]Colegio Particular Serena

En la Bahía de Coquimbo, existen tres humedales que presentan hábitats naturales para fauna silvestre migratoria y que son áreas de uso recreativo y productivo en actividades como cultivos de camarones, extracción de moluscos y áridos. Estos ambientes son impactados por la actividad humana, a través de la evacuación de aguas residuales de origen doméstico, las que podrían provocar su eutroficación y/o afectar a sus comunidades microbianas autóctonas. Por esta razón, evaluamos la abundancia y diversidad de microorganismos ambientales y la presencia de patógenos en tres humedales: 1) Laguna Saladita en el sector Punta de Teatinos (PT), 2) desembocadura del Río Elqui (RE) y 3) Estero El Culebrón (EC). No se encontraron diferencias significativas en la abundancia de bacterias aeróbicas mesófilas heterotróficas, entre los humedales estudiados ($F_{(2-6)}$=1,16; P>0,05), la diversidad bacteriana determinada mediante Indice de Shannon Wiener (H´) muestra diferencias entre los sitios (H'_{PT}= 1,33; H'_{RE}= 0,60; H'_{CE}=1,65); Además el índice de similitud de Sorensen no refleja un alto grado de semejanza entre las diferentes comunidades estudiadas (PT = 0%; RE-EC = 25%). Se discute el posible efecto adverso del manejo de los humedales, en relación a la dinámica de las comunidades microbianas en los sitios estudiados y del impacto que tendría sobre la salud humana.

P-132 **POLIFOSFATOS EN EL ARQUEON *Sulfolobus acidocaldarius*: HACIA LA CARACTERIZACION GENETICA Y FUNCIONAL DE SU METABOLISMO.** (Polyphosphates in the archaeon *Sulfolobus acidocaldarius*: Towards its genetic and functional characterization of its metabolism). Cardona, S., Guiliani, N., Remonsellez, F. y Jerez, C.A. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. E-mail: scardona@pregrado.ciencias.uchile.cl cjerez@ abello.dic.uchile.cl

El Dominio *Archaea* incluye microorganismos conocidos como extremófilos. Entre estos, los termoacidófilos, como *Sulfolobus acidocaldarius* crecen a pH 1.5-3 y a temperaturas de 70-80°C. Actualmente existe un gran interés por dilucidar los mecanismos por los cuales estos microorganismos se adaptan y responden a su medio ambiente. Cuando los microorganismos son sometidos a condiciones estresantes, acumulan un exceso de fosfato (Pi) en la forma de polifosfato (poliP). La única vía actualmente establecida para la biosíntesis de poliP es la polimerización del fosfato terminal del ATP mediante la enzima polifosfato kinasa (PPK). Hay fuertes evidencias sobre el rol de los poliP en la regulación de la respuesta de *Escherichia coli* ante cambios ambientales y durante la fase estacionaria.
En nuestro laboratorio, hemos analizado las respuestas moleculares globales de *S. acidocaldarius* frente al shock térmico y la falta de fosfato. Hemos observado la presencia de polifosfatos y también hemos detectado sus niveles mediante un nuevo método cuantitativo. Nuestro propósito es caracterizar los componentes genéticos involucrados en el metabolismo de los poliP. En *S. acidocaldarius* se ha descrito la purificación de una proteína asociada al glicógeno con actividad PPK. Esta metodología combinada con una electroforesis bidimensional nos permitió aislar esta proteína de aproximadamente 60 kDa (P60) que presenta dos formas fosforiladas. Determinamos las secuencias amino terminal de la P60 y de dos péptidos internos. Estas tres secuencias peptídicas fueron utilizadas para diseñar partidores degenerados con el fin de identificar el gen *p60* por DOP-PCR. Se amplificó un fragmento de 700 pb el cual se clonó en el vector pGEM-T. La secuenciación de este fragmento se encuentra en progreso.
Financiado por proyectos FONDECYT 197/0417, FONDECYT 2990035/99 y DAAD.

P-133 **ESTUDIO DE LA RELACION ESTRUCTURA-ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE FLAVONOIDES.** (Study of the relationship between the structure and antibacterial activity of flavonoids). Opazo, J.*, Tapia, L.*, Urzua, A.**, Mendoza, L. *** y Wilkens, M. *. *Dpto. Cs. Biológicas, ** Lab. Qca. Ecológica, ***Dpto. Qca. de los Materiales. Facultad de Qca. y Biología, USACH, Casilla40, Correo33, Santiago, Chile. Socio Patrocinante:Dra. Isabel Llona.

Los flavonoides son productos naturales distribuidos en plantas. Entre sus propiedades está la actividad antibacteriana, sin embargo, no existe un estudio sistemático que relacione esta actividad con su estructura, pero se ha propuesto que la lipofilia sería importante. En este trabajo se relacionó las características lipofílicas de flavonoides con su actividad antibacteriana. Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) en medio sólido y líquido para bacterias Gram positivo y negativo. Además se evaluó el efecto de los compuestos activos en curvas de crecimiento de *B. subtilis* y *E. coli*. De 18 compuestos, 9 fueron activos frente a bacterias de ambos tipos (CMI:1,25-20ug), 5 resultaron inhibitorios (CMI:10-25ug),y 4 fueron inactivos (CMI>25ug). *B. subtilis* fue más sensible que *E. coli*, siendo los más activos bacteriolíticos. Se determinó el coeficiente de difusión (D) mediante la técnica de Taylor-Aris. La correlación de D con los valores de CMI mostró que compuestos más activos presentan un rango de D entre $9,4 \times 10^{-10}$ y $12,3 \times 10^{-10} m^2/seg$, y los compuestos inactivos muestran D superiores o inferiores al rango mencionado. Esto sugiere que la acción antibacteriana de flavonoides estaría relacionada con la membrana y que una lipofilia en cierto rango favorecería su acción.
Financiamiento:FONDECYT 1990209 y DICYT USACH.

P-134 **EFECTO DE LA CORRIENTE DE EL NIÑO SOBRE LOS MICROORGANISMOS Y NUTRIENTES DEL SUELO EN UN SITIO ARIDO DEL PARQUE NACIONAL FRAY JORGE, IV REGION, CHILE** (The effect of El Niño on microorganisms and nutrients in an arid site of the Fray Jorge National Park, IV Región, Chile) Aguilera, L. E.; Gutiérrez J. R. y Meserve P. L. Departamento de Biología, Universidad de La Serena y Department of Biological Sciences, Northern Illinois University.

El agua y el nitrógeno, son los principales factores que regulan la dinámica de la vegetación de ambientes áridos. Las precipitaciones asociadas a los eventos El Niño (ENSO) determinan procesos de germinación, crecimiento y productividad en varios componentes florísticos del ecosistema árido, así como la actividad de los niveles tróficos superiores. Los requerimientos nutricionales para el crecimiento vegetal provocan un agotamiento de éstos en el suelo, por lo cual, los procesos microbianos, relacionados con las mineralización son claves en su funcionamiento. En Chile, existe escasa información sobre las comunidades microbianas del suelo y no hay antecedentes sobre los efectos que podrían tener los eventos ENSO en su estructura y funcionamiento. En este trabajo mostramos resultados sobre abundancia de microorganismos y nutrientes del suelo obtenidos antes, durante y después del evento ENSO 1997, en un sitio árido dentro del Parque Nacional Fray Jorge. Las precipitaciones asociadas al evento ENSO de 1997 estimulan el crecimiento y modifican la estructura microbiana del suelo y se relacionan negativamente con su contenido de Nitrógeno.
Finaciamiento: FONDECYT N° 197-0576.

P-135 **LA ACTIVIDAD TRANSCRIPTASA REVERSA MITOCONDRIAL DE PLANTAS PODRIA ESTAR INVOLUCRADA EN EL TRASPASO DE GENES MITOCONDRIALES HACIA EL NUCLEO.** (Plant mitochondrial reverse transcriptase activity is probably involved in mitochondrial gene transfer to the nucleus). Fuentealba, R. y Moenne. A. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biologia, Univeisidad de Santiago de Chile.

Hemos demostrado que existe una actividad transcriptasa reversa (TR) en mitocondrias de plantas que está codificada por el gen mitocondrial mat-r presente en un intrón de tipo 11. La proteina MAT-R tiene un dominio amino terminal con homología a transcriptasas reversas un dominio central con homología a endonucleasas y un dominio carboxilo terminal con homología a maturasas (dominio X).
Se ha demostrado que la proteína AL2 de mitocondrias de hongos, homóloga a MAT-R, es capaz de copiar reversamente el intrón de tipo 11 que la codifica e insertarlo en el mismo gen mitocondrial que no contiene intrón (retrohoming). Recientemente, se ha determinado que algunas proteínas mitocondriales pueden salir de la mitocondria. Considerando que el traspaso de genes mitocondriales hacia el núcleo todavía ocurre en vegetales, que mat-r es capaz de aceptar otros RNAs moldes distintos al intrón de tipo 11 que la codifica reconociendo una estructura tipo tRNA en el extremo 3' del RNA, que mat-r tiene una señal de localización nuclear en el dominio X y que presenta actividad transcriptasa reversa y una potencial actividad endonucleasa, postulamos que: MAT-R es capaz de unir transcritos mitocondriales codificantes que presentan una estructura tipo tRNA en su extremo 3, que puede viajar hasta el núcleo, copiar reversamente los transcritos e insertarlos en el genoma nuclear

Indice Alfabético de Autores

A

Abarca, C. R-223
Abarca, J. R-171
Abrahamson, P.A. R-203
Accatino, L. R-209
Acevedo, C. R-198
Acevedo, E. R-226
Acuña, G. R-198
Adonis, M. R-137
Agius, E. R-129
Aguayo, J. R-192
Aguayo, L.G. R-200
Aguayo, L.G. R-228
Agüero, P. R-149
Aguilera, A. R-158
Aguilera, C. R-227
Aguilera, F. R-140
Aguilera, J. R-207
Aguilera, J. R-234
Aguilera, L.E. R-238
Aguilera, L.E. R-239
Aguillón, J.C. R-160
Aguillón, J.C. R-213
Aguirre, A. R-160
Ahumada, F. R-223
Alarcón, G. R-189
Alarcón, J. R-165
Alarcón, M. R-192
Alberdi, A.J. R-207
Alberdi, M. R-221
Alberdi, M. R-222
Albores, A. R-137
Alcaíno, J. R-190
Alcayaga, J. R-199
Alcota, J. R-197
Aldana, M. R-164
Aldunate, R. R-175
Allende, J.E. R-181
Allers, C. R-190
Alliende, M.A. R-210
Almarza, C. R-159
Alvà, V. R-142
Alvarez, A. R-236
Alvarez, J. R-174
Alvarez, M. R-189
Alvarez, M.G. R-161
Alvarez, R. R-213
Alvarez, R.M. R-134
Alvear, M. R-192
Amat, P. R-199
Amigo, L. R-194
Amoroso, A, ... R-181
Amthauer, R. R-161
Amthauer, R. R-204
Angel, A. R-179
Angerstein, P.A. R-206
Aranda, M. R-208
Araneda, C. R-212
Aranki, N. R-226
Araya, A. R-133
Araya, C. R-231
Araya, M. R-196
Araya, P. R-155
Arce, I. R-210
Arce, P. R-172
Arce-Johnson, P. R-221
Arévalo, J. R-206
Armero, J.M. R-134
Armero, J.M. R-200
Arredondo, A. R-217
Arredondo, J. R-169
Arredondo, M. R-195
Arrese, M. R-209
Arriagada, C. R-134
Arriagada, C. R-134
Arriagada, C. R-200
Arrisi, P. R-234
Arroyo, J. R-199
Aspé, E. R-192
Aspillaga, M. R-211
Astorga, M. R-216
Astudillo, L. R-157
Astuya, A, ... R-171
Atala, C. R-151
Atala, C. R-219
Auerbach, I. R-135
Austin, D. R-162
Avendaño, I. R-211
Avila, M. R-190

B

Babul, J. R-183
Babul, J. R-183
Bachiller, D. R-129
Bacigalupe, L.D. R-143
Badilla, R. R-148
Báez, M. R-183
Báez, S. R-134
Baeza, C.M. R-173
Baeza, M. R-190
Baeza, R. R-197
Baker, A.J.M. R-215
Balboa, L. R-150
Ballesteros, G. R-162
Balmaceda, C. R-228
Barahona, S. R-190
Barberis, M.S. R-204
Barbosa, O. R-164
Barbosa, O. R-215
Bardisa, L. R-158
Barra, B. R-225
Barra, V. R-141
Barrera, A. R-176
Barría, M. R-152
Barrientos, G. R-176
Barril. A. R-204
Barros, C. R-181
Barros, C. R-181
Barros, F. R-177
Barros, L.F. R-235
Bastidas, F. R-148
Becerra, J. R-143
Becerra, J. R-226
Becerra, J. R-238
Becker, M.I. R-167
Bégu, D. R-133
Behrens, C. R-161
Bello, H. R-237
Belmar, J. R-125
Bellsey, R. R-216
Beltrán M. R-176
Benavente, J. R-193
Benavides, E. R-174
Benítez, J. R-234
Bentjerodt, O. R-156
Berliner, L.J. R-136
Bernt, C. R-128
Berthou, F. R-137
Besoaín, X. R-205
Betancourt, L. R-158
Bickham, J.W. R-185
Billetta, R. R-213
Bitrán, R. R-208
Bitran. M. R-224
Bittner, W. R-237
Blanc, V. R-133
Blanco, L.P. R-152
Blazquez, J.L. R-199
Boisier, X. R-187
Bollo, S. R-157
Bonansco, C. R-140
Bonasco, C. R-234
Bono, M. R-177
Bono, M.R. R-189
Bono, M.R. R-153
Bontá, M. R-157
Borde, M. R-140
Boric, M.P. R-144
Borie, F. R-192
Bozinovic, F. R-143
Bozinovic, F. R-142
Bozinovic, F. R-142
Bozinovic, F. R-178
Bozinovic, F. R-217
Brandan, E. R-128
Brandan, E. R-181
Brann, D.W. R-131
Bratti, S. R-146
Bravo, I. R-198
Bravo, J.A. R-144
Bravo, L.A. R-221
Bravo, M. R-174

Brieva, L.M. R-184
Briones, R. R-222
Brito, J. R-175
Brito, J. R-233
Brito, M. R-177
Brodsky, B. R-183
Bron, C. R-188
Bronfman, F.C. R-132
Brown, N.E. R-161
Bruna, C. R-182
Bull, P. R-156
Buño, W. R-140
Bunster, M. R-182
Buracchio, B. R-211
Burgos, P. R-189
Burzio, L.O. R-169
Bustamante, C. R-157
Bustamante, D. R-131
Bustamante, D. R-170
Bustamante, E. R-181
Bustamante, E. R-181
Bustamante, J. R-222
Bustamante, R.O. R-179
Bustamante, R.O. R-215
Bustos, G. R-134
Bustos, G. R-171
Bustos, G. R-171

C

Caballero, E. R-223
Caballero, P.P. R-218
Cabello, A. R-180
Cabrejos, M.E. R-163
Cabrejos, M.E. R-168
Cabrera, R. R-208
Cáceres, M.S. R-210
Calixto, A. R-166
Calixto, A. R-235
Cambiazo, V. R-231
Cament, P. R-233
Campillay, R. R-209
Campos De Q, H. R-214
Campos, O R-186
Campusano, C. R-211
Canales, M. R-182
Canales, M. R-232
Canales, M. R-232
Canals, M. R-151
Canals, M. R-219
Cancino, J. R-227
Cannady, W.E. R-131
Cantillana, C. R-162
Cantillana, V. R-180
Caprile, T. R-229
Cárcamo, J.G. R-197
Cardemil, E. R-167
Cardemil, E. R-196
Cardemil, L. R-172
Cárdenas, A.M. R-134
Cárdenas, H. R-207
Cárdenas, H. R-214
Cárdenas, H. R-231
Cárdenas, H. R-234
Cárdenas, L. R-147
Cárdenas, S. R-199
Cardona, S. R-238
Carey, D. R-124
Carey, D. R-128
Carmona, R. R-133
Carpinelli, J. R-133
Carpinelli, J. R-146
Carrasco, G. R-235
Carrasco, J. R-208
Carrasco, M. R-200
Carrión, Y. R-187
Cartier, L. R-161
Carvacho. I. R-233
Carvajal, C. R-160
Carvajal, M. R-147
Carvajal, N. R-238
Carvajal, N. R-182
Carvallo, P. R-162
Casado, A. R-165
Cassorla, F. R-162
Castilla, J.C. R-216
Castillo, A. R-193
Castillo, C. R-162
Castillo, J.A. R-227
Castillo, R. R-228
Castro , T. R-171
Castro, J. R-235
Castro, M. R-193
Catalán, L. R-165
Catalán, M. R-235
Caviedes, P. R-134
Caviedes, P. R-134
Caviedes, P. R-200
Caviedes, R. R-134
Caviedes, R. R-134
Caviedes, R. R-206
Cavieres, L.A. R-173
Cavieres, L.A. R-173
Cecchi, C. R-178
Celedón, G. R-197
Cerda, F. R-221
Cerda, F. R-226
Cerpa, J. R-197
Chacón, M.A, ... R-202
Chávez, R. R-156
Chen, C. R-135
Chianale, J. R-159
Cid, L.P. R-175
Cifuentes, L. R-162
Cifuentes, L. R-211
Cifuentes, V. R-190
Cifuentes, V. R-193
Clark, D. R-206
Claros, S. R-215
Collados, L. R-161
Colombo, A. R-160
Colombo, A. R-213
Concha, I. R-177
Concha, I.I. R-222
Concha, M.I. R-204
Conget, P. R-188
Connelly, C. R-155
Constandil, L. R-143
Contreras, E. R-223
Contreras, E. R-223
Contreras, H. R-128
Contreras, I. R-237
Contreras, I. R-237
Contreras, L. R-208
Contreras, M. R-218
Contreras, P. R-148
Corcuera, L.J. R-221
Cordano, G. R-166
Córdoba, J.L. R-222
Cornejo, P. R-187
Cornelius, C. R-164
Cornudella, L. R-142
Corsini, G. R-190
Corsini, G. R-227
Cortés, A. R-217
Cortés, J.F. R-134
Cortez, M.S. R-218
Cortínez, G. R-148
Court, F. R-195
Couve, E. R-208
Crovetto, C. R-192
Croxatto, H.B. R-166
Cruz, A. R-162
Cruz, M.A. R-235
Cubillos, A. R-223
Cuello, A. C. R-132
Cuenca, X. R-222
Cuevas, C.C, ... R-185
Cullen, D. R-191

D

Dagnino-Subiabre, A. R-134
Dagnino-Subiabre, A. R-200
Dallel, R. R-170
Daroch, F. R-209
De Ioannes, A. R-160
De Ioannes, A. R-167
De Ioannes, P. R-198
De la Fuente, E. R-189
De la Fuente, M. R-195
De la Fuente, M. R-212
De Sevilla, L. R-131

Dekant, W. R-138
Del Brío, M.A. R-229
Del Villar, E. R-186
Délano, P. R-224
Delatorre, J. R-172
Delgado, C. R-224
Delgado, J R-197
Delgado, J. R-207
Delgado, J. R-234
Depiereux, E. R-198
Depix, M.S. R-211
Deprez, P. R-183
De Robertis, E.M. R-129
Devés, R. R-233
Dewachter, I. R-132
Díaz, A. R-208
Díaz, L. R-134
Díaz-Véliz, G. R-224
Domínguez, A. R-235
Domínguez, M. R-236
Domínguez, M. R-237
Duarte, W. R-163
Duek, P.D. R-135
Dussaubat, N. R-208

E

Echeverría, V. R-155
Egaña, L. R-162
Eguibar, J.R. R-234
El Husein, M. R-204
Elgueta, M. R-216
Eltit, J.M. R-166
Erices, A. R-188
Escobar, A. R-160
Escobar, A. R-230
Escobar, J. R-171
Escobar, J. R-173
Espinosa, C. R-162
Espinosa, V. R-197
Espinoza, I. R-153
Esquivel, P. R-152
Estrada, M. R-176
Estrada, M. R-165
Estrella, C. R-208
Eyzaguirre, J. R-156
Eyzaguirre, J. R-198
Eyzaguirre, J. R-226

F

Falzone, T. R-132
Farfán, G. R-150
Farré, J.C. R-133
Féral, J.P. R-142
Fernández, H.L. R-200
Fernández, J. R-180
Fernández, K. R-141
Fernández, M. R-189
Fernández, M.J. R-216
Fernández, R. R-207
Fernández, R. R-234
Fernández, V. R-187
Fernández, V. R-187
Ferreira, A. R-160
Ferreira, A. R-213
Ferreira, H. R-153
Ferreira, J. R-160
Ferreira, J. R-166
Ferreira, L. R-160
Ferreira, L. R-213
Ferrer, P. R-193
Ferro, E.S. R-203
Fiedler, J.L. R-131
Fiedler, J.L. R-199
Figueroa, C. R-214
Figueroa, J. R-204
Figueroa, J.E. R-141
Figueroa, P. R-133
Figueroa, R. R-163
Figueroa, X.F. R-144
Finkelstein, J. R-213
Flores, A. R-233
Flores, F. R-229
Foncea, R. R-159
Foradori, A.C. R-211
Forray, M.I. R-171
Foster, R. R-165
Froehner, S.C. R-141
Fuentealba, R. R-239
Fuentes, E. R-197
Fuentes, M. R-197
Fuentes, M. R-197
Fuentes, N. R-157
Fuentes, R. R-186
Fuentes-Contreras. E. R-218
Fuenzalida, L. R-210
Fuenzalida, M. R-234
Fujii, H. R-136
Fullerton, D. R-189

G

Gabrielli, L. R-189
Gädicke, P. R-223
Gaete, F. R-165
Gaete, L. R-156
Gaete, L. R-156
Gajardo, D. R-148
Gajardo, P. R-166
Galanti, N. R-153
Galanti, N. R-203
Galanti, N. R-213
Galaz, J.L. R-185
Galindo, M. R-203
Galindo, M. R-213
Gallardo, A.M. R-158
Gallardo, J. R-227
Gallardo, M. R-162
Gallardo, M. R-185
Gallardo, V. R-235
Galleguillos, R. R-212
Gálvez, A. R-166
Ganga, A. R-193
Garay, T. R-162
Garbarino, J. R-160
García, A. R-209
García, L. R-198
García, L. R-222
García, M. R-221
García, M.A. R-228
García, V. R-146
García-Ramos, J.V. R-136
Garnica, S. R-220
Garretón, V R-133
Garretón, V. R-146
Garrido, J. R-180
Gatica, A. R-160
Gazdar, A. R-161
Gebauer, M. R-221
Gelman, D. R-132
George-Nascimento, M. R-150
Germack, R. R-233
Gianoli, E. R-217
Gidekel, M. R-146
Gidekel, M. R-162
Gidekel, M. R-191
Gidekel, M. R-222
Gil, L. R-137
Gil, L. R-137
Ginocchio, R.I. R-215
Glavic, A. R-153
Godoy, A. R-210
Godoy, A. R-228
Godoy, J. R-158
Godoy, R. R-216
Golan, R. R-135
Gómez, A. R-134
Gómez, C. R-152
Gómez, H. R-233
Gómez, I. R-133
Gómez, I. R-149
González, A. R-174
González, A. R-189
González, B. R-193
González, C. R-209
González, C. R-235
González, C.B. R-156
González, D. R-196
González, D.R. R-144
González, E. R-146

González, E. R-149
González, F. R-143
González, G. R-177
González, G. R-237
González, J, ... R-166
González, L.A. R-163
González, M. R-230
González, S. R-133
González, S. R-161
González, W.L. R-219
González, W.L. R-219
Gotelli, N.J. R-130
Goycoolea, M. R-211
Granes, F. R-128
Greiner, M. R-199
Grez, A.A. R-151
Grez, A.A. R-179
Griño, B. R-166
Guacucano, M. R-154
Guaitiao, J.P. R-154
Guajardo, V. R-186
Guègan, J.F. R-130
Guerra, J. R-163
Guerra, J. R-178
Guerra, M. R-199
Guerra, M. R-218
Guerra. M. R-229
Guerrero, A. R-166
Guerrero, C. R-177
Guerrero, N. R-234
Guiliani, N. R-238
Guiñazu, M.F. R-229
Guíñez, R. R-216
Guixé, V. R-183
Guixé, V. R-183
Gutiérrez, A. R-162
Gutiérrez, A. R-191
Gutiérrez, A. R-222
Gutiérrez, J. R-167
Gutiérrez, J.R. R-173
Gutiérrez, J.R. R-239
Guzmán, L. R-227
Gysling, K. R-171
Gysling, K. R-171

H

Habit, E. R-179
Haeger, P. R-171
Hansma, H. R-135
Hartzell, P.L. R-203
Henríquez, J. R-213
Henríquez, J.P. R-174
Hermosilla, T. R-235
Hermoso, M. R-196
Hernández, A. R-170
Hernández, A. R-229
Hernández, C. R-151
Hernández, P. R-230
Hernández, P. R-235
Herrera, P. R-197
Herrera, P. R-206
Herrera, R. R-162
Hetz, C. R-177
Hetz, C. R-190
Hidalgo, C. R-176
Hidalgo, C. R-176
Hidalgo, P. R-133
Hidalgo, P. R-148
Hinrichs, M.V. R-155
Hochberg, M.E. R-129
Hoeneisen, M. R-209
Hofer, B. R-144
Holden, P. R-135
Holmes, D. R-154
Holuigue, L. R-133
Holuigue, L. R-146
Hombauer, H. R-230
Honeycutt, R. R-185
Horta, P. R-158
Huber, A. R-220
Hubert, E. R-205
Hunn, M. R-208
Hurtado, C. R-202

I

Ihl, M. R-205
Imarai, M. R-207
Imarai, M. R-214
Imarai, M. R-234
Imschenetzky, M. R-168
Inestrosa, N.C. R-140
Inestrosa, N.C. R-183
Inestrosa, N.C. R-202
Infante, C. R-167
Inostroza, C. R-154
Iriarte, J. R-151
Islas, A. R-233
Israel, Y. R-157
Israel, Y. R-213
Iturra,P. R-212
Iturriaga, R. R-199

J

Jabalquinto, A.M. R-167
Jacob, G. R-155
Jacobelli, S. R-188
Jaffa, A.A. R-144
Jaimovich, E. R-176
Jaksic, F.M. R-163
Jamett, A. R-226
Jara, A. R-210
Jara-Seguel, P. R-212
Jedlicki, E. R-154
Jerez, C.A. R-238
Jiménez, I. R-186
Jiménez, M. R-155
Jiménez, M. R-184
Jiménez, P. R-209
Jiménez, V. R-207
Jipoulou, F. R-156
Jobet, F.C. R-214
Jordán, M. R-220
Jordana, X. R-133
Jordana, X. R-157
Jorquera, H. R-211
Juretic, N. R-202
Jurkiewicz, A. R-125

K

Kägi, M. R-223
Karahanian, E. R-213
Katoh, M. R-180
Kausel, G. R-141
Kausel, G. R-169
Kenagy, G.J. R-184
Kessi, E. R-176
Kettlun, A.M. R-161
Kettlun, A.M. R-197
King, M.C. R-162
King, M.C. R-211
Klattenhoff, C. R-189
Koenig, C. R-231
Koenig, J. R-175
Kramer, V. R-223
Kramer, K. R-193
Krejci, E. R-183
Kresse, H. R-129
Krsulovic, J. R-174
Kukuljan, M. R-152
Kunkel, L. R-141
Kurte, M. R-222

L

Labbé, C. R-211
Labra, F. R-151
Labra, F. R-179
Lagos, N. R-179
Lagos, R. R-190
Lagos, R. R-190
Lam,N. R-212
Lambert, C. R-198
Lara, H.E. R-131

Lara, H.E. R-199
Larraín, J. R-129
Larraín, M. R-220
Larrondo, L.F. R-190
Larrondo, L.F. R-191
Lavandero, S. R-166
Lazo, B. R-211
Leal, S. R-169
Lefimil, C. R-155
Lehnebach, C. R-221
Lehner, G. R-172
Leighton, F. R-160
Leisewitz, A. R-194
Leiva, S. R-216
Lembeye, G. R-222
León, G. R-204
León, O. R-154
León, O. R-185
León, R. R-190
León-Velarde, F. R-233
Letelier, M.E. R-186
Letelier, M.E. R-186
Levicán, G. R-154
Levkau, B. R-129
Leyton, L. R-188
Lillo, M. R-232
Lima, M. R-163
Lira, M. R-152
Lissi, E.A, ... R-197
Loayza, R. R-206
Lobos, A. R-131
Lobos, O. R-205
Lobos, S. R-190
Lobos, S. R-191
López, A. R-156
López, M. R-162
López, M. R-211
López. Mercedes R-230
López, V. R-197
López, V. R-227
López-Calleja, M.V. R-216
López-Calleja, M.V. R-217
López-Cortés, F.J. R-173
López-Rivero J.L. R-233
Loyola, C. R-196
Loyola, E. R-226
Loyola, J. R-157
Lu, B. R-129
Lucas, D. R-137
Lüders, C. R-158
Ludwig, H. R-197
Lütz, C. R-172

M

Macari, A. R-161
Maccioni, R.B. R-230
Macnair, M. R-215
Magendzo, K. R-171
Mahesh, V.B. R-131
Maisey, K. R-207
Maldonado, C. R-152
Maldonado, E. R-191
Maldonado, M.E. R-236
Maliqueo, M. R-131
Manami. R. R-161
Mancilla, K. R-183
Mancini, M. R-158
Mannherz, O. R-192
Manríquez, V. R-236
Manterola, J.L. R-156
Manzano, M. R-193
Marcelain, K. R-206
Mardones, G. R-159
Mardones, L. R-236
Marie, S.K.N. R-141
Marín, J.C R-185
Marín-Catalán, R. R-186
Marquet, P. R-150
Marquet, P. R-164
Marquet, P. R-173
Marquet, P. R-214
Márquez, C. R-233
Marshall, S. R-205
Marticorena, A. R-173
Marticorena, C. R-143
Marticorena, C. R-173
Martín, N. R-158
Martínez, C. R-190
Martínez, C. R-193
Martínez, E.A. R-216
Martínez, G. R-227
Martínez, J R-155
Martínez, J. R-182
Martínez, J. R-202
Martínez, J. R-202
Martínez, P. R-191
Martínez, P. R-216
Massa, L. R-187
Massai, R. R-234
Massardo, L. R-188
Massoulié, J. R-183
Matamala, F. R-213
Matthei, O. R-173
Maya, J. R-157
Mayfield, R.K. R-144
Mayor, R. R-153
Medina, J. R-166
Medina, M.C. R-211
Medina, R. R-168
Mella, R. R-159
Méndez, M. R-185
Méndez, M. R-218
Mendoza, H. R-194
Mendoza, L. R-238
Mentis, G. R-200
Mercado, A. R-172
Mercado, C. R-161
Mericq, V. R-162
Merino, V. R-233
Meserve, P. R-239
Metz, C. R-188
Meynard, C. R-217
Meza-Basso, L. R-148
Mezzano, D. R-210
Miguel, P. R-235
Minguell, J.J. R-188
Miquel, A. R-193
Miquel, J.F. R-161
Miranda, D. R-152
Miranda, E. R-217
Miranda, M. R-174
Miranda, S. R-165
Miska, W. R-236
Moenne, A. R-239
Moggia, C. R-226
Mol, V. R-221
Molgo, M. R-161
Molina, B. R-213
Molina, H. R-204
Molina, M. R-226
Molina, M.C. R-160
Molina, M.C. R-213
Monasterio, O. R-190
Monasterio. O. R-182
Moncada, C. R-157
Moncada, C. R-157
Moncada, M. R-158
Moncada, S. ..... R-??
Mondaca, M. R-170
Mondaca, M.A. R-238
Montealegre, J R-205
Montecino, M. R-168
Montecino, M. R-124
Montecino, M. R-168
Montecinos, H. R-229
Montecinos, L. R-230
Montecinos, V. R-228
Montoya, M. R-189
Montoya, R. R-212
Mora, G. R-233
Mora, J.R. R-189
Mora, S. R-224
Mora-García, S. R-135
Moraes, M.M. R-179
Moraga, M. R-162
Morales, A. R-192
Morales, B. R-234
Morales, C. R-162
Morales, C. R-191
Morales, C.H. R-168
Morales, M.P. R-166
Morales, P. R-235
Morello, A. R-157
Moreno, C. R-163

Moreno, C. R-178
Moreno, M. R-161
Morgan, C. R-200
Morinelli, T.A. R-144
Mosqueira, M. R-199
Moya, M.A. R-226
Moya, P. R-192
Mueller, J.D. R-135
Mujica, L. R-222
Müller, A.P. R-125
Müller, A.P. R-129
Muller, I, ... R-193
Müller, I, ... R-169
Muñoz, A.A. R-219
Muñoz, D. R-141
Muñoz, J.P. R-230
Muñoz, P. R-195
Muñoz, R. R-236
Muñoz, R.I. R-229
Muñoz, S. R-166
Murialdo, H. R-155
Muriel. S. R-151
Murúa, R. R-163

N

Nader, H.B. R-203
Narváez, C.G. R-212
Navarrete, R. R-200
Navarro, J. R-156
Neckelman, G. R-155
Neira, M.A. R-221
Neira, R. R-212
Nelson, P. R-180
Nelson, P. R-234
Nervi, F. R-194
Nespolo, R.F. R-150
Neumann, P. R-233
Niemeyer, H.M. R-218
Niemeyer, H.M. R-218
Norambuena, L. R-146
Novoa, F. R-145
Novoa, F. R-217
Novoa, F.F. R-142
Novoa, F.F. R-150
Novoa, F.F. R-151
Novoa, R. R-211
Nualart, F. R-195
Nualart, F. R-200
Nualart, F. R-228
Núñez, M.T. R-195
Núñez-Vergara, L. R-157

O

O'Connell, B.C. R-129
Ocaranza, P. R-166
Ocqueteau, M. R-210
Ogalde, F. R-164
Ojeda , M. R-205
Ojeda, F.P. R-151
Ojeda, F.P. R-164
Ojeda, S. R-166
Oksenberg, D. R-156
Olate, J. R-155
Olea, N. R-219
Olguín, H, ... R-196
Oliva, G. R-225
Oliva, P. R-223
Olivares, P. R-223
Opazo, C. R-175
Opazo, C. R-202
Opazo, J. R-238
Opazo, J.C. R-150
Opazo, J.C. R-178
Opazo, J.P. R-191
Ordenes, V. R-147
Orellana, A. R-133
Orellana, A. R-146
Orellana, A. R-147
Orellana, B.M. R-186
Orellana, B.M. R-209
Orellana, O. R-155
Ortega, X. R-147
Ortiz, J.C. R-216
Ortiz, S. R-193
Ortiz, S. R-209
Osorio, D. R-149
Osses, N. R-180
Otth, C. R-149
Oyarzún, M. R-208

P

Padilla , C. R-205
Paeile, C. R-170
Pajot, J. R-170
Palacios, J.L. R-191
Palma, A.T. R-142
Palma, R.E. R-184
Palma, R.E. R-185
Palma, V. R-152
Palma-Rojas, C. R-212
Palominos, J.A. R-181
Palominos, J.A. R-181
Panepucci, H. R-135
Panes, O. R-210
Pantoja, C. R-158
Paredes, A. R-131
Paredes, A. R-199
Paredes, H. R-162
Paredes, R. R-168
Paredes, R. R-203
Parra, C. R-199
Parra, L.E. R-143
Parra, R. R-236
Parraguez, V.H. R-143
Passos-Bueno, M.R. R-141
Pastor, F. R-199
Pavani, M. R-166
Peirano, A. R-156
Pelissier, T. R-170
Pelissier, T. R-170
Pelissier, T. R-170
Peña, E. R-238
Peña, P. R-236
Peña, P. R-236
Peña-Cortés, H. R-147
Peralta, O. R-211
Pereda, J. R-203
Pereda, J. R-204
Pereira, J. R-210
Pérez, C. R-152
Pérez, C. R-166
Pérez, C. R-213
Pérez, H. R-229
Pérez, L.M. R-147
Pérez, L.M. R-205
Pérez, P. R-186
Pérez, T. R-161
Pérez-Pantoja D. R-193
Peruzzo, B. R-199
Pietrasanta, L. R-135
Pimentel, A. R-140
Pinar, B. R-154
Pino, C. R-237
Pino, M. R-165
Pino, P. R-186
Pinto, R. R-197
Pizarro, M. R-209
Place, N.J. R-184
Poblete, F. R-149
Poggi, H. R-211
Polanco, R. R-190
Pottstock, H. R-231
Poulin, E. R-142
Prado, V. R-221
Prehn, D. R-172
Preller, A. R-176
Preller, A. R-177
Prieto, C. R-226
Prieto, G. R-158
Puchi, M. R-168
Puente, J. R-152
Puente, J. R-222
Pulgar, J. R-164

Q

Quatrini, R. R-190
Quest, A.F.G. R-188
Quest, A.F.G. R-208
Quevedo, L. R-180
Quevedo, S. R-211
Quezada, C. R-169
Quezada, M. R-233
Quezada, S. R-160
Quintanilla, M.E. R-206

R

Ramírez, C. R-220
Ramírez, C. R-237
Ramírez, C.C. R-218
Ramírez, C.C. R-219
Ramírez, I. R-147
Ramos, M. R-192
Ramos-Jiliberto, R. R-150
Rapoport, S.I. R-134
Rasmussen-Poblete, S. R-173
Rauch, M.C. R-149
Recabarren, S.E. R-131
Reina, M. R-128
Reinicke, K. R-204
Remonsellez, F. R-238
Repetto, Y. R-166
Repetto, Y. R-157
Retamal, M. R-177
Reyes, A.E. R-140
Reyes, A.E. R-202
Reyes, A.M. R-165
Reyes, A.R. R-197
Reyes, E.P. R-199
Reyes, L. R-153
Reyes, M. R-205
Reyes, X. R-189
Rezende, E.L. R-143
Rezende, E.L. R-142
Richter, H.G. R-229
Riera, P R-229
Rigotti, A. R-189
Rigotti, A. R-165
Riquelme, C. R-181
Risopatrón, J. R-236
Rivas, A. R-237
Rivas, C.I. R-195
Rivera, A. R-150
Rivera, E. R-166
Rivera-Milla, E. R-184
Riveros, M. R-221
Riveros, M. R-221
Roa, C. R-232
Roa, J. R-236
Rocco, P. R-141
Rodrigo, R. R-186
Rodrigo, R. R-209
Rodríguez, A. R-157
Rodríguez, E.M. R-199
Rodríguez, J.A. R-157
Rodríguez, L. R-211
Rodríguez, L.C. R-218
Rodríguez, P. R-183
Rodríguez, P.H. R-165
Rodríguez, R. R-182
Rodríguez, R. R-173
Rodríguez, S. R-203
Rodríguez, S. R-229
Rodríguez-Gironés M.A. R-163
Rojas, C. R-210
Rojas, E. R-175
Rojas, E. R-235
Rojas, G. R-237
Rojas, H. R-233
Rojas, J.M. R-151
Rojas, M.C. R-148
Rojas, M.C. R-149
Rojas, P. R-146
Romeo, E. R-211
Roncagliolo, M. R-234
Rosemblatt, M. R-189
Rosenmann, M. R-142
Rosenmann, M. R-217
Roth, A. R-194
Roth, M. R-154
Roth, M. R-185
Rothhammer, F. R-162
Rousseau, C. R-162
Rousseau, C. R-211
Roveraro, C. R-220
Rubinstein, M. R-132
Rudolph, M.I. R-171
Ruiz, E. R-143
Ruiz, F. R-182
Ruiz, G. R-217
Ruiz-Lara, S. R-146

S

Saavedra, C. R-196
Saavedra, I. R-156
Saavedra, I. R-156
Saavedra, M. R-156
Saavedra, M. R-156
Sabat, P. R-178
Sabat, P. R-217
Sáez, C.G. R-189
Sagredo, C. R-149
Said, A. R-226
Salas, L. R-190
Salas, M. R-182
Salazar, F. R-230
Salazar, J. R-155
Salazar, J. R-186
Salazar, M. R-148
Salazar, T. R-162
Saldías, S. R-237
Salinas, M. R-221
Salinas, P. R-133
Salinas, P. R-148
Salinas, Y. R-158
Sampaio. L.O. R-203
San Martín, C. R-172
Sánchez, C. R-147
Sánchez, F. R-174
Sánchez, M. R-186
Sánchez, R. R-236
Sánchez, R. R-236
Sandoval, P. R-149
Santa María, L.I. R-210
Santander, C. R-204
Santibáñez, J.F R-202
Santibáñez, J.F. R-202
Santos, M. R-211
Santos, M. R-231
Sapag, A. R-198
Sapag, A. R-157
Sardón, M. R-222
Sarmiento, J. R-231
Schachter, K. R-156
Schaefer, L. R-129
Schmeda-Hirschmann, G. R-157
Schneider, P. R-188
Schöbitz, K. R-181
Schoch, S. R-205
Schönherr, E. R-129
Seeger, M. R-144
Seelenfreund, D. R-190
Segura-Aguilar, J. R-134
Segura-Aguilar, J. R-200
Sepúlveda, C. R-195
Sepúlveda, D. R-190
Sepúlveda, F.V. R-175
Sepúlveda, G. R-226
Sepúlveda, M. R-215
Sepúlveda, M.J. R-170
Sepúlveda, M.J. R-223
Sepúlveda, M.J. R-223
Sepúlveda, M.J. R-224
Sepúlveda, N. R-236
Serey, I. R-215
Serón-Ferré, M. R-143
Serrá, A. R-168
Serrano, C. R-172
Sfeir, A. R-222
Shimahara, T. R-134
Sierra, F. R-152
Sierra, J. R-168
Sillaber, I. R-170
Sillaber, I. R-224
Silva, A. R-216
Silva, C. R-164
Silva, E. R-182

Silva, E. R-223
Silva, H. R-133
Silva, H. R-213
Silva, M. R-143
Silva, M. R-162
Silva, M. R-238
Silva, S.I. R-151
Simón, V. R-189
Simonetti, J.A. R-179
Simonetti, J.A. R-215
Sir-Petermann, T. R-131
Sjoberg, M. R-162
Slebe, J.C. R-197
Smith, C. R-164
Sobrevía, L. R-233
Socías, T. R-146
Solari, A. R-209
Solís, N. R-209
Söll, D. R-124
Sorenson, C. R-135
Soreq, H. R-124
Soreq, H. R-132
Sosa, M.A. R-207
Soto, C. R-180
Soto, E.R. R-185
Soto, G. R-233
Soto, R.E. R-164
Soto, X. R-191
Soto, X. R-168
Soto-Gamboa, M. R-142
Soto-Moyano, R. R-170
Soto-Moyano, R. R-229
Soto-Suazo, M. R-203
Sotomayor, C. R-177
Sotomayor, C. R-235
Soza, A. R-174
Spanagel, R. R-170
Spanagel. R. R-224
Speisky, H. R-186
Spittaels, K. R-132
Spotorno, A.E. R-185
Squella, J. R-157
Stenseth, N.C. R-163
Stewart, P. R-191
Strahsburger, E. R-227
Stutzin, A. R-175
Stutzin, A. R-235
Subiabre, M. R-172
Suwalsky, M. R-235

T

Tamayo, E. R-191
Tamayo, E. R-168
Tapia, A. R-220
Tapia, C. R-183
Tapia, G. R-187
Tapia, G. R-187
Tapia, J. R-155
Tapia, J.C. R-200
Tapia, L. R-165
Tapia, L. R-238
Téllez, R. R-157
Tello, M. R-190
Tesseur, I. R-132
Theoduloz, C. R-148
Thielemann, L. R-209
Timmis, K.N. R-144
Toledo, H. R-237
Tolosa, J. R-203
Tolosa, J. R-204
Toro, A. R-231
Toro, M.J. R-155
Torrejón, M. R-155
Torres, C. R-182
Torres, N. R-222
Torres, R.T. R-175
Torres, V. R-157
Torres, V. R-214
Trecaman, R. R-220
Triviño, C. R-149

U

Uauy, R. R-165
Ubilla, A. R-180
Ullian, M.E. R-144
Ulloa, N. R-221
Ureta, T. R-160
Uribe, E. R-197
Urra, S. R-157
Urrutia, H. R-192
Urrutia, H. R-226
Urrutia, M. R-180
Urrutia, O. R-149
Urzúa, A. R-238
Urzúa, L. R-186
Urzúa, U. R-148
Utreras, E. R-166

V

Vainzof, M. R-141
Valdés De la Barra, R. R-233
Valdés, D. R-207
Valdés, D. R-234
Valdés, E. R-186
Valdivia, L. R-193
Valdivia, R. R-180
Valencia, A. R-190
Valencia, P. R-177
Valenzuela, E. R-216
Valenzuela, M. R-212
Valenzuela, M.A. R-197
Valenzuela, M.A. R-198
Valenzuela, M.A. R-222
Valenzuela, P. R-193
Valenzuela, R. R-167
Valim, C. R-153
Van den Haute, C. R-132
Van Dorpe, J. R-132
Van Leuven, F. R-132
van Zundert, B. R-228
van Zundert, B. R-228
Varela, L. R-214
Varela, P. R-154
Vargas, M. R-233
Vasconcellos, A R-213
Vasconcellos, A. R-236
Vásquez, B. R-236
Vásquez, C. R-196
Vásquez, M.C. R-175
Vásquez, M.C. R-202
Vásquez, O. R-200
Vásquez, R.A. R-130
Vásquez, R.A. R-178
Vásquez, R.A. R-178
Vega, A. R-148
Vega, E. R-225
Vega, P. R-186
Vega, R. R-196
Vega, V. R-236
Velarde, V. R-144
Velásquez, J.C. R-191
Velásquez, L. R-207
Velásquez, L. R-234
Veloso, A. R-185
Veloso, C. R-184
Venegas, A. R-146
Venegas, W. R-208
Vera, J. R-183
Vera, J.C. R-165
Vera, J.C. R-195
Vera, M. R-221
Vera, M.I. R-169
Verdugo, I. R-146
Vergara, A. R-147
Vergara, M R-238
Vergara, N. R-212
Veuthey, C. R-236
Vial, J.D. R-126
Victoriano, P. R-179
Vicuña, R. R-148
Vicuña, R. R-190
Vicuña, R. R-191
Vidal, M. R-192
Vidal, M. R-238
Vidal, R. R-192
Videla, L.A. R-187
Videla, L.A. R-187
Vilaró, S. R-128

Villagra, A. R-206
Villalón, M. R-166
Villanueva, J R-161
Villanueva, J. R-204
Villanueva, S. R-199
Villarreal, A. R-193
Villarroel, L. R-208
Villegas, J. R-169
Villena, J. R-159
Vinagre, J. R-222
Vinés, E.D. R-237
Vío, C.P. R-194
Vío, K. R-203
Vivaldi, E. R-236
Vollrath, V. R-159

W

Wagner, C. R-203
Wallace, A. R-209
Walter, R. R-152
Ward, P.H. R-236
Weber, H. R-149
Werner, E. R-177
Wielandt, A.M. R-159
Wilckens, M. R-238
Wistuba, I. R-161
Wolosiuk, R.A. R-126
Wouters, J. R-198

Y

Yáñez, A.J. R-197
Yáñez, K. R-193
Yáñez, M. R-146
Yáñez, T.M. R-157
Yates, T.L. R-184
Yévenes, A. R-167
Yévenes, G. R-228
Yoccoz, M.G. R-163
Youderian, P. R-203
Youderian, P. R-237
Young, R. R-153
Yudelevich, A. R-226
Yudilevich, D R-125
Yuseff, M.I. R-133
Yuseff, M.I. R-147

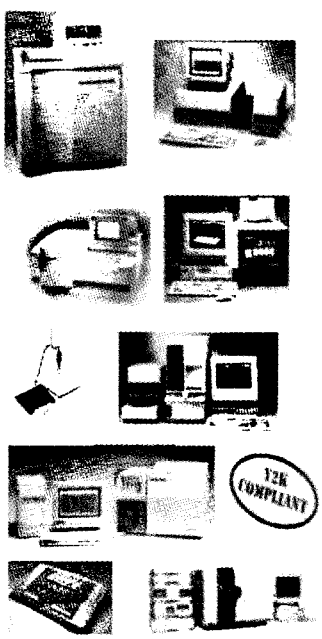
Z

Zaha, A. R-153
Zahr,M. R-205
Zaldívar, M. R-237
Zambrano, A. R-177
Zambrano, C. R-165
Zamorano, E. R-179
Zamorano, P. R-213
Zamorano, P.L. R-131
Zamorano, P.L. R-131
Zanlungo, S. R-194
Zanocco, A. R-197
Zatz, M. R-141
Zemelman, R. R-237
Ziegler, A. R-161
Zielinski, M. R-144
Zorn, T.M.T. R-203
Zúñiga, D. ..... R-198?
Zúñiga, D. R-224
Zúñiga, G.E. R-172
Zúñiga, G.E. R-173
Zúñiga, J. R-214
Zúñiga, R. R-155

TECSIS

INSTRUMENTACION
SERVICIOS

Solución Integral en Instrumentos Científicos



BECKMAN COULTER — Centrífugas . Ultracentrífugas
Espectro fotómetros . pHmetros
Contadores de Centelleo . CE
HPLC

JEOL — Microscopios Electrónicos
MS Sector Magnético
RMN

HORIBA — Tamaño Partículas . pHmetros
Calidad de Agua

conviron — Cámaras de Crecimiento
Cámaras de Germinación

GOW-MAC INSTRUMENT CO. — Cromatografía de Gases

MIDAC — FT-IR

Av. Holanda 1248; Santiago; Chile
Fono: 205 1313 - Fax: 225 0759
WWW.TECSIS.CL

CALIDAD Y SERVICIO,

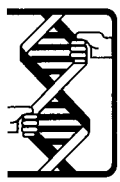
PILARES FUNDAMENTALES

DE NUESTRA FILOSOFIA

INNOVACION PERMANENTE Y UNA INFRAESTRUCTURA ADECUADA, NOS PERMITEN BRINDAR A USTED UN SERVICIO AGIL, INTEGRAL Y EFICIENTE.

EPRESENTANTES EXCLUSIVOS
ARA CHILE DE:

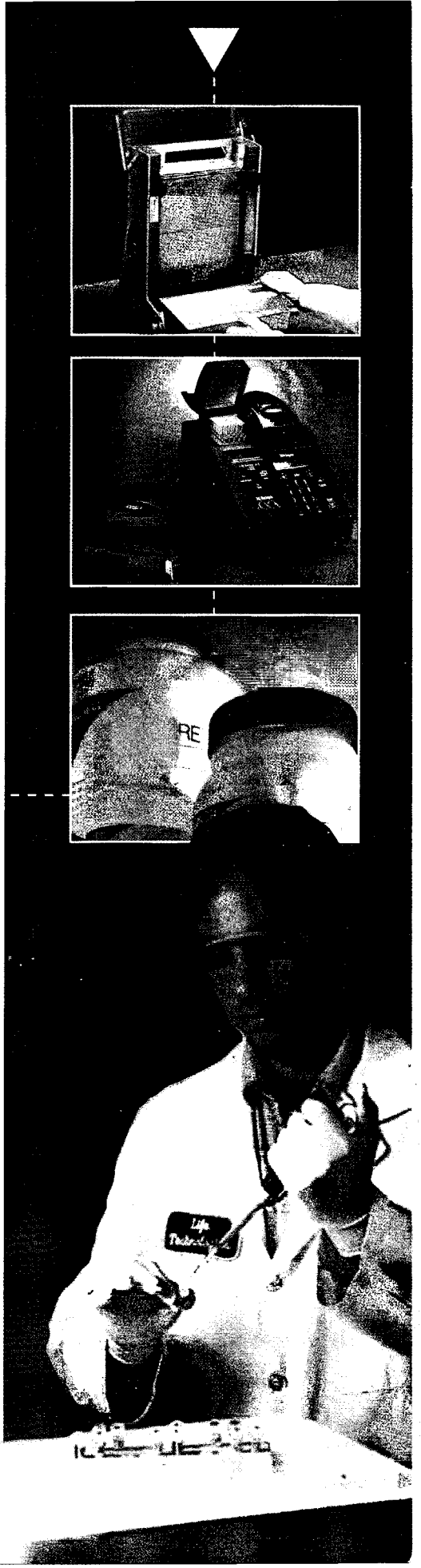
- LIFE - TECHNOLOGIES INC. (GIBCO BRL)
- NUNC
- M.J. RESEARCH
- BRINKMANN - EPPENDORF
- VILBER LOURMAT
- PHARMAGEN S.A.
- AGDIA INC.
- LIFECODES INC.
- QUALITY SCIENTIFIC PLASTIC



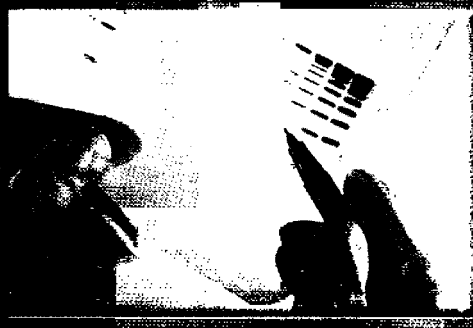
BIOS Chile

INGENIERIA GENETICA S.A.

/. MARATHON 1943 Ñuñoa - Santiago
ELEFONO: (56-2) 238 1878 FAX: (56-2) 239 4250
maíl: ventas@bioschile.cl



INVESTIGACION
DESARROLLO
PRODUCCION
COMERCIALIZACION



BIOSONDA S.A.®
BIOTECNOLOGIA

• BLUE CARRIER®:
LA PROTEÍNA INMUNOGÉNICA DEL SIGLO XXI.

Con el apoyo de FONTEC-CORFO y FONDECYT, hemos desarrollado BLUE CARRIER®, una proteína de la familia de las hemocianinas, purificada desde el molusco Loco (*Concholepas concholepas*). Este producto de alta pureza y solubilidad, ha sido utilizado exitosamente por empresas biotecnológicas, como Santa Cruz Biotecnology, en el desarrollo de anticuerpos policlonales y monoclonales contra antígenos sintéticos y péptidos. Actualmente es distribuido mundialmente por Pierce Chemical Company y Calbiochem-Novabiogen.

• SERVICIOS:

Secuenciación de DNA.

Síntesis de oligonucleótidos.

Anticuerpos policlonales y monoclonales.

Ofrecemos el servicio de desarrollo y producción de anticuerpos policlonales en conejos y monoclonales murinos, con asistencia en:

- Preparación de antígenos y diseño de péptidos.
- Seguimiento del título de anticuerpos.
- Preparación de líquido ascítico.
- Purificación de anticuerpos.

• ADEMÁS:

Inmunoquímica de proteínas, suero fetal, animales de laboratorio, biología celular, síntesis de péptidos y radiomarcación de compuestos orgánicos, inmunología, análisis de alimentos, material para cultivo celular, biología molecular y mucho más.

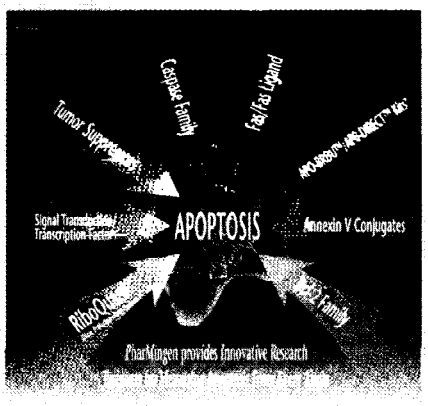
• REPRESENTACIONES:

CUANDO USTED NOS PREFIERE, ESTÁ IMPULSANDO EL DESARROLLO DE LA BIOTECNOLOGIA EN CHILE

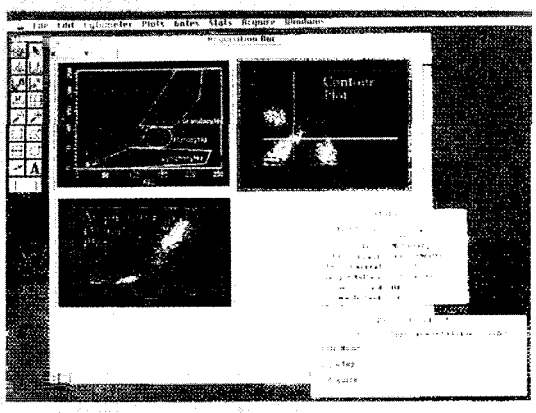
http://www.biosonda.cl • e-mail: biosonda@biosonda.cl
Fono: (56-2) 209 6770 • Fax: 274 5462
Alc. Eduardo Castillo Velasco 2902, Ñuñoa • Santiago • Chile.

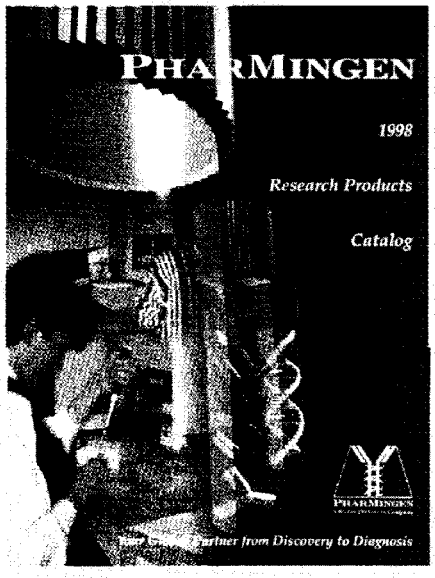
JEPG PUBLICIDAD: 274 2325

Ursula Biggemann y Cía. Ltda.

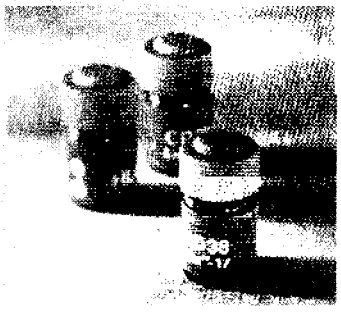


- **Becton Dickinson**
  - Citometría de Flujo - Sorting
  - Anticuerpos Monoclonales
  - Sist. Fast Inmune para Citoquinas
  - QuantiBrite
  - Falcon





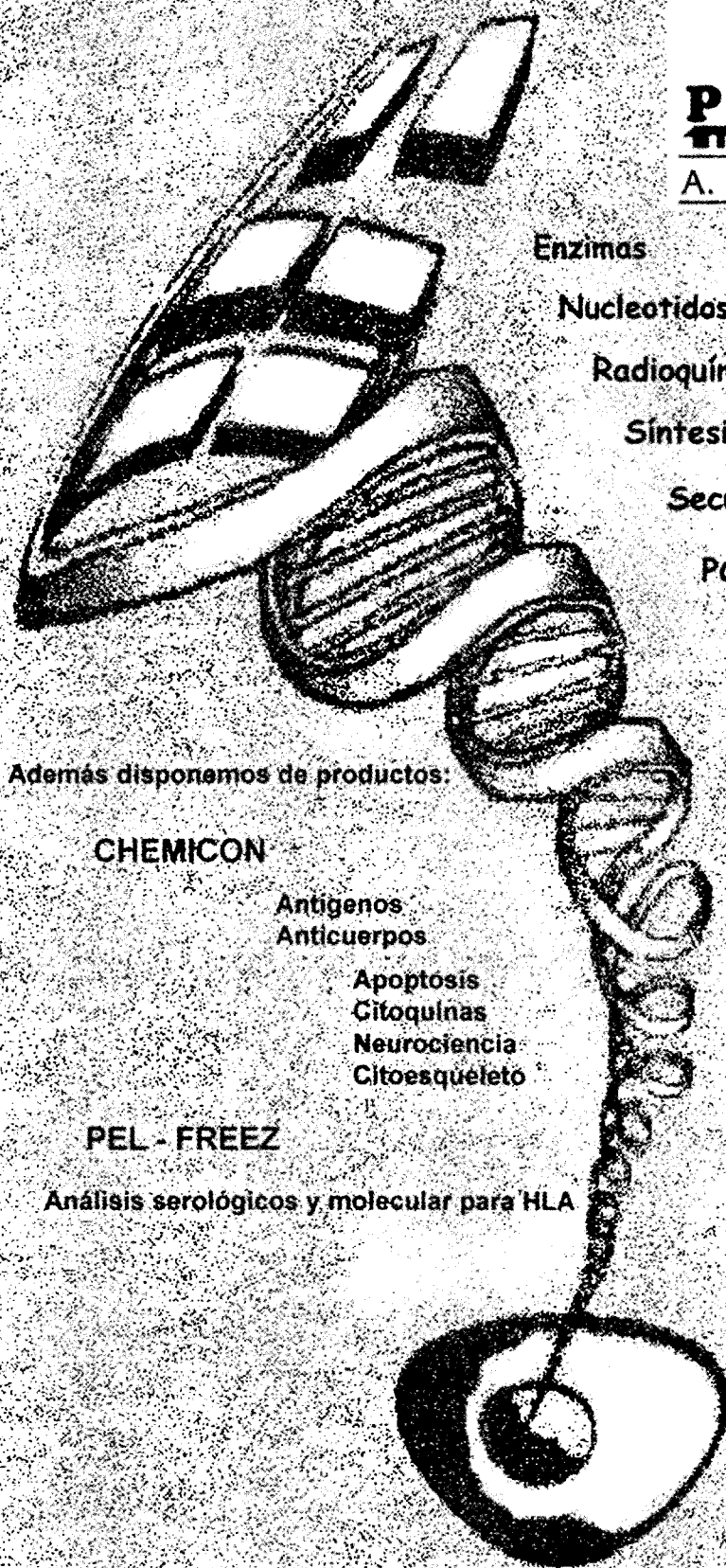
- **Pharmingen**
  - La mayor variedad de Anticuerpos Monoclonales; Humanos, rata, ratón, etc.
  - Apotosis
  - Citoquinas
  - Biología Celular
  - Neurobiología
  - Elisa
  - PCR
  - Y mucho mas...



- **MACS**
  - Instrumentos
  - Columnas y reactivos para separación magnética celular

MACS
Magnetic Cell Sorting

Av. Vitacura 2909 Of. 1007 - Las Condes, Santiago, Chile.
Fono: 3349282 - Fono/Fax: 3341136
E-mail: ursulab@ctc-mundo.net



Pharma Bril

A. Bril y Compañía Limitada

Enzimas

Nucleotidos

Radioquímicos

Síntesis DNA/RNA

Secuenciación DNA

PCR, cDNA & Cloning

Análisis Fragmentos

Purificación DNA/RNA

Espectrofotómetros

Fluorómetros

Cromatografía

Medios y Columnas

Sistemas y Accesorios

Todo para Electroforesis

Además disponemos de productos:

CHEMICON

Antigenos
Anticuerpos

Apoptosis
Citoquinas
Neurociencia
Citoesqueleto

PEL - FREEZ

Análisis serológicos y molecular para HLA

amersham pharmacia biotech

A.BRIL Y COMPAÑIA LIMITADA SANTIAGO CONCHA 1675 SANTIAGO

E-mail: abril@ctcreuna.cl FONO: 555 8819 FAX: 555 8192

MÁS

Soluciones
Soporte
Comunicación
Rendimiento

QUE INSTRUMENTOS DE CALIDAD

CONSÚLTENOS Y ENCUENTRE MÁS
Teléfono
(562) 655 1600
Fax
(562) 269 8070
Visítenos en
Av. Francisco Bilbao 882
Providencia
Santiago
Chile

PerkinElmer®
instruments.

Visite nuestra Website en www perkin-elmer.com