



ISSN 0004-0533

# ARCHIVOS DE BIOLOGIA Y MEDICINA EXPERIMENTALES

VOL. 22

NOVIEMBRE 1989

Nº 3

SOCIEDAD IBEROAMERICANA DE  
BIOLOGIA CELULAR  
4º. Congreso

SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE  
32ª. Reunión Anual

SOCIEDAD DE GENETICA DE CHILE  
22ª. Reunión Anual

SOCIEDAD DE BIOQUIMICA DE CHILE  
13ª. Reunión Anual

SOCIEDAD DE BIOLOGIA CELULAR DE CHILE  
3ª. Reunión Anual

SOCIEDAD CHILENA DE REPRODUCCION  
Y DESARROLLO  
2ª. Reunión Anual

Viña del Mar  
21 al 25 de noviembre de 1989

Resúmenes de  
Conferencias, Simposios y Comunicaciones

Sociedad de Biología de Chile

Los  
**ARCHIVOS DE BIOLOGIA Y MEDICINA EXPERIMENTALES**

órgano oficial de la Sociedad de Biología de Chile, están destinados a publicar trabajos originales sobre problemas de las distintas ramas de la Biología y de la Medicina Experimental. Además publicarán trabajos de revisión y el texto de conferencias acerca del estado actual de problemas de interés general en las disciplinas mencionadas. Asimismo, darán cabida a los resúmenes de comunicaciones presentadas en reuniones anuales o especiales de las Secciones de la Sociedad y de las Sociedades afiliadas. Ocasionalmente, *Archivos* publicará, especialmente, los trabajos *in extenso* presentados en simposios realizados en el país.

Director: Dr. *Tito Ureta* (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile).

Subdirector: Dr. *Jorge Babul* (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile).

Asesor Jurídico y Representante Legal: Sr. *Iván Figueroa Moreno* (Agustinas 715, Of. 703, Santiago).

Propietario de Archivos: *Sociedad de Biología de Chile*, personería jurídica N° 2.521 (4 de junio de 1954), Rol Unico Tributario 70 397.400-7. Domicilio legal: Las Palmeras 3425, Casilla 16164, Santiago 9, Chile.

Toda correspondencia y suscripciones deben dirigirse a la Sociedad de Biología de Chile, Casilla 16164, Santiago 9, Chile.

*Correspondence and suscription orders should be addressed to the Sociedad de Biología de Chile, P.O. Box 16164, Santiago 9, Chile.*

Vol. 23, 1990, six issues:  
january, march, may, july, september,  
november.

Price per volume: US\$ 72.00 includes  
air mail delivery.

**This publication is  
available in microform  
from University  
Microfilms  
International.**



Please send information about these titles:

\_\_\_\_\_

Name \_\_\_\_\_

Company/Institution \_\_\_\_\_

Address \_\_\_\_\_

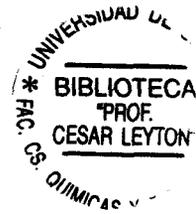
City \_\_\_\_\_

State \_\_\_\_\_ Zip \_\_\_\_\_

Phone ( ) \_\_\_\_\_

Call toll-free 800-521-3044. In Michigan,  
Alaska and Hawaii call collect 313-761-4700. Or  
mail inquiry to: University Microfilms International,  
300 North Zeeb Road, Ann Arbor, MI 48106.

# ARCHIVOS DE BIOLOGÍA Y MEDICINA EXPERIMENTALES



Vol. 22

Noviembre 1989

Nº 3

*Editor*

TITO URETA

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias  
Universidad de Chile, Santiago

*Vice-Editor*

JORGE BABUL

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias  
Universidad de Chile, Santiago

*Editores Asociados***Medicina Experimental:**

BRUNO GUNTHER (Universidad de Concepción).  
MANUEL OYARZUN (Universidad de Chile).

**Biología Celular:**

NORBEL GALANTI (Universidad de Chile).

**Reproducción y Desarrollo:**

LUIS IZQUIERDO (Universidad de Chile).  
HORACIO CROXATTO (P. Universidad Católica de Chile).

**Bioquímica y Biología Molecular:**

CATHERINE CONNELLY (Universidad de Chile).  
JAIME EYZAGUIRRE (P. Universidad Católica de Chile).

**Fisiología y Biofísica:**

RENATO ALBERTINI (P. Universidad Católica de Chile).  
RAMON LATORRE (Universidad de Chile).

**Farmacología:**

JUAN P. GARCIA-HUIDOBRO (P. Universidad Católica de Chile).

**Genética:**

DANKO BRNCIO (Universidad de Chile).

**Inmunología:**

ARTURO FERREIRA (Universidad de Chile).

**Biología Vegetal:**

LUIS CORCUERA (Universidad de Chile).

**Neurobiología:**

ESTEBAN RODRIGUEZ (Universidad Austral de Chile).  
PATRICIO ZAPATA (P. Universidad Católica de Chile).

**Biología Teórica:**

FERNANDO LOLAS (Universidad de Chile).

Este número de *Archivos* cuenta con un subsidio del  
"Fondo de Publicación de Revistas Científicas"  
del Ministerio de Educación Pública de Chile.

**ARCHIVOS  
DE  
BIOLOGIA Y MEDICINA  
EXPERIMENTALES**

Vol. 22

Noviembre 1989

Nº 3

40. CONGRESO SOCIEDAD IBEROAMERICANA DE BIOLOGIA CELULAR  
32ª. REUNION ANUAL SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE  
22ª. REUNION ANUAL SOCIEDAD DE GENETICA DE CHILE  
13ª. REUNION ANUAL SOCIEDAD DE BIOQUIMICA DE CHILE  
3ª. REUNION ANUAL SOCIEDAD DE BIOLOGIA CELULAR DE CHILE  
2ª. REUNION ANUAL SOCIEDAD CHILENA DE REPRODUCCION Y DESARROLLO

**RESUMENES**

	<b>Página</b>
<b>Conferencias</b>	<b>R 189</b>
<b>Simposios</b>	<b>R 192</b>
<b>Comunicaciones</b>	<b>R 225</b>
<b>Indice de Autores</b>	<b>321</b>

Los

## ARCHIVOS DE BIOLOGIA Y MEDICINA EXPERIMENTALES,

órgano oficial de la Sociedad de Biología de Chile, están destinados a publicar trabajos originales sobre problemas de las distintas ramas de la Biología y de la Medicina Experimental. Además publicarán trabajos de revisión y el texto de conferencias acerca del estado actual de problemas de interés general en las disciplinas mencionadas. Asimismo, darán cabida a los resúmenes de comunicaciones presentadas en reuniones anuales o especiales de las Secciones de la Sociedad y de las Sociedades afiliadas. Ocasionalmente, *Archivos* publicará especialmente, los trabajos *in extenso* presentados en simposios realizados en el país.

### INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

#### INFORMACION GENERAL

Envíe el original y un duplicado del manuscrito a

Editor, Archivos de Biología y Medicina  
Experimentales  
Casilla 16164, Correo 9  
Santiago, CHILE

El texto deberá ser escrito a máquina a doble espacio en toda su extensión, lo que incluye referencias, tablas, notas al pie de página y leyendas, en hojas de 21 por 27 cm (tamaño carta) con un margen de 2,5 cm por lado. El texto debe ser tan corto como sea posible. Comience en hoja separada cada uno de los siguientes ítems: a) Título del trabajo, nombre de los autores, Institución en que se efectuó el trabajo (Laboratorio, Departamento, Instituto, etc.) seguido de su dirección postal y el subtítulo (no más de 60 caracteres incluyendo los espacios); b) resumen; c) texto; d) referencias; e) notas al pie de página; f) leyendas de figuras (pueden agruparse en una o más páginas); g) cada una de las tablas. Numere sucesivamente todas las páginas del manuscrito, empezando por aquella que contiene el título. Indique la localización apropiada en el texto de tablas y figuras mediante notas marginales.

Los manuscritos deben escribirse en correcto español, evitando el uso de neologismos técnicos o abreviaturas que no sean las internacionalmente aceptadas.

La adopción del idioma inglés, por la mayoría de las publicaciones científicas en el momento actual, hace aconsejable la

recepción y consideración editorial de manuscritos en ese idioma. Estas contribuciones deben ceñirse estrictamente a las normas usuales y aceptadas de la gramática inglesa.

#### ORGANIZACION DEL MANUSCRITO

Se sugiere que cada trabajo conste de las siguientes secciones: a) Abstract, en inglés; b) Introducción; c) Métodos; d) Resultados; e) Discusión; f) Referencias. En algunos casos puede ser aconsejable la combinación de Resultados y Discusión en una sola sección, especialmente si se trata de comunicaciones breves.

1. Título. Es necesario que el título sea informativo. No debe incluir fórmulas químicas ni abreviaturas. Debe tenerse en cuenta que el título de un trabajo es usado frecuentemente para la construcción de índices de materias. Si el trabajo se presenta en castellano, al título debe seguir su traducción al inglés y viceversa.

2. Autores. Puede producirse confusión si los autores se identifican sólo mediante el apellido y la inicial de su nombre. Los *Archivos* recomiendan seguir las instrucciones de algunas comisiones internacionales que sugieren usar el primer nombre completo. Por ejemplo, use *Juan Pérez* en lugar de *J. Pérez*. Puede ser apropiado usar además la inicial del segundo nombre. Por ejemplo, *Juan C. Pérez* en vez de *J. C. Pérez*.

3. Todo trabajo debe comenzar con un resumen breve que presente clara y concisamente el plan, procedimientos y los resultados significativos de la investigación que se

describe. El resumen debe ser comprensible en sí mismo sin referencia al resto del trabajo. Debe ser entendible para el lector no especializado y por lo tanto se evitarán términos excesivamente técnicos y abreviaturas.

4. La Introducción debe exponer el propósito de la investigación y su relación con otros trabajos publicados, pero no convertirse en una revisión exhaustiva de la literatura existente.

5. La descripción de los Métodos debe ser breve, pero adecuada, para permitir la repetición del trabajo por otros investigadores.

6. LOS RESULTADOS pueden presentarse en tablas o figuras (véase más abajo) pero sólo si es estrictamente necesario. Muchos hallazgos pueden describirse en palabras sin necesidad de tablas o figuras. La DISCUSION debe ser concisa y referirse a la interpretación de los resultados presentados.

7. Las REFERENCIAS pueden presentarse de dos maneras alternativas: 1) Se indicarán en el texto por un número entre paréntesis correlativo al orden de aparición. Al final del texto se agruparán abreviándolas según los siguientes ejemplos. Incluya las páginas INICIAL Y FINAL.

Aebi, H., Koblet, H. Wartburg, J.E., *Helvet. Physiol. Pharmacol. Acta* 15: 384-392, 1957.

Jellinek, E.M. *The Disease Concept of Alcoholism*. New Haven, Hillhouse Press, 1960.

Richter, C.P. En *Neuropharmacology. Transactions of the Third Conference* (Abramson, H.A., Ed.). New York, Josiah Macy Jr. Foundation, 1957, pp. 39-63.

2) Se indicarán en el texto con la mención de los autores y el año de la publicación entre paréntesis, e.g. "... para la medición de proteínas (Lowry et al., 1951)." o "de acuerdo con las indicaciones de Miller (1959)." Al final del texto se agruparán por orden alfabético y, si hay más de una cita del mismo autor, según la antigüedad de la cita. Se incluirá el título completo del artículo citado. Incluya las páginas INICIAL Y FINAL.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. y Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.

Miller, G.L. (1959) Protein determination for large number of samples. *Anal. Chem.* 31, 964.

Cite en las REFERENCIAS artículos que hayan sido aceptados para publicación; el nombre de la revista deberá ir seguido por las palabras "en prensa" y por el año probable de publicación. Incluya en el texto entre paréntesis, o en una nota al pie de página, no en REFERENCIAS, cualquier mención a "manuscrito en preparación", "experimentos no publicados", "comunicación personal". En este último caso, verifique la redacción de la comunicación personal con la persona que proporcionó la información y obtenga su aprobación para usar su nombre en relación a la cita. Es de responsabilidad de los autores obtener autorización específica de toda "comunicación personal" como también de los "Agradecimientos". Se da por entendido que los autores han enviado copia del manuscrito a las personas mencionadas y que se ha obtenido su aprobación específica; los editores pueden requerir copia de tal autorización.

8. No pueden insertarse en el texto resultados obtenidos después de presentar el manuscrito. Asimismo, no se aceptarán cambios sustanciales en las conclusiones que se basen en nuevos resultados de los autores o de otros investigadores. No obstante, si a juicio de los editores tales adiciones son necesarias, podrán agregarse en una nota antes de las referencias.

9. Deberán incluirse los nombres latinos binomiales subrayados de los organismos de experimentación, excepto los de los animales comunes de laboratorio. No use abreviaturas si son mencionados en el título y en el resumen. Es conveniente indicar el lugar de obtención de los animales. Para los efectos de nomenclatura deberán seguirse las reglas establecidas en el "International Code of Zoological Nomenclature". Deben incluirse también los nombres latinos binomiales de todas las especies de plantas y microorganismos que se mencionen. Las

variedades y fuentes de obtención deben especificarse.

Al referirse a experimentos en genética bacteriana deberán seguirse las recomendaciones propuestas por Demerec, M., Adelberg, E.A., Clark, A.J. y Hartman, P.E. (*Genetics* 54: 61-76, 1966).

La Sociedad de Biología de Chile y el Comité Editorial de *Archivos* hacen suyos los principios expresados en la Declaración de Helsinki (1964). Los autores que describan experimentos en humanos deberán asegurar que su trabajo concuerda con tal declaración e incluir en el texto una nota que específicamente indique que los sujetos han expresado su consentimiento informado a su participación en el trabajo.

10. La denominación de las drogas que se mencionen se ajustará al criterio establecido en *Pharmacological Reviews*.

11. Las enzimas deberán identificarse en su primera mención de acuerdo con la Enzyme Commission de la International Union of Biochemistry.

#### PREPARACION DE TABLAS

1. Las tablas se enumerarán en forma correlativa con números romanos. Cada tabla debe tener un título explicativo y suficiente detalle experimental como para ser comprensible sin referencia al texto. El encabezamiento de cada columna debe expresar claramente su contenido y la unidad. No se incluirán datos que puedan ser deducidos aritméticamente de otros contenidos en ella. Si una condición experimental, por ejemplo, número de animales, dosis, concentración de un compuesto, etc., es la misma para todos los experimentos presentados, proporcione esa información

en una nota al pie de la tabla y no en una columna de números iguales en la tabla. Para conservar espacio, no tabule repetidas observaciones individuales y prefiera el empleo de valores promedio y alguna medida aceptable de dispersión (desviación estándar, rango), indicando el número de las observaciones individuales que contribuyen a la estadística. Cualquier comentario con respecto a la significación de las medidas debe ir acompañado de los valores de probabilidad deducidos de algún análisis estadístico.

#### PREPARACION DE ILUSTRACIONES

Cada figura debe ir acompañada por un título y una leyenda explicativa. Las leyendas de varias figuras pueden escribirse en la misma hoja. Cada leyenda debe describir el suficiente detalle experimental como para que la figura sea comprensible sin referencia al texto. Identifique cada figura en el margen o dorso, con los nombres de los autores y el número que le corresponde.

Las ilustraciones pueden ser dibujos originales o fotografías de muy buena calidad en papel brillante. Cada copia del manuscrito debe acompañarse de una copia de las figuras.

Los dibujos originales deberán prepararse con tinta china en papel de buena calidad. Números y letras deberán dibujarse con normógrafo o materiales transferibles (Letraset o similar). El tamaño de los gráficos y de las letras y símbolos debe calcularse de manera que la figura pueda ser reducida a un ancho de columna (7 cm). Letras y números deberán dibujarse de modo que tengan al menos 1,5 mm después de la reducción.

**SOCIEDAD IBEROAMERICANA DE BIOLOGIA CELULAR**  
4º. Congreso

**SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE**  
32ª. Reunión Anual

**SOCIEDAD DE GENETICA DE CHILE**  
22ª. Reunión Anual

**SOCIEDAD DE BIOQUIMICA DE CHILE**  
13ª. Reunión Anual

**SOCIEDAD DE BIOLOGIA CELULAR DE CHILE**  
3ª. Reunión Anual

**SOCIEDAD CHILENA DE REPRODUCCION Y DESARROLLO**  
2ª. Reunión Anual

**Viña del Mar**  
21 al 25 de noviembre de 1989

**Resúmenes de**  
**CONFERENCIAS, SIMPOSIOS Y COMUNICACIONES**

**ESTA REUNION CIENTIFICA HA SIDO POSIBLE GRACIAS AL  
PATROCINIO Y GENEROSA CONTRIBUCION DE LAS  
SIGUIENTES INSTITUCIONES**

**AGENCIA DE VIAJES PSNC  
ALFABETA IMPRESORES  
ACADEMIA DE CIENCIAS DEL TERCER MUNDO  
BIOS CHILE INGENIERIA GENETICA S.A.  
CONSEJO BRITANICO  
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS, ESPAÑA  
COMPAÑIA DE ACERO DEL PACIFICO  
CONICYT  
EMBAJADA DE LA REPUBLICA ARGENTINA  
EMPRESA "EL MERCURIO S.A."  
EMPRESAS CCT  
FEDERACION INTERNACIONAL DE BIOLOGIA CELULAR  
FUNDACION ANDES  
FUNDACION ROCKEFELLER  
COSTA  
GRANDES CONSUMIDORES, NESTLE - CHILE  
ISAPRE COLMENA  
LABORATORIO UPJOHN  
LABORATORIO CHILE  
LAN CHILE  
MINISTERIO DE SALUD, CHILE  
MUNICIPALIDAD DE VIÑA DEL MAR  
PAABS  
PEPSI-COLA INTERAMERICANA  
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE  
PROGRAMA EN REPRODUCCION HUMANA DE LA OMS  
RED LATINOAMERICANA DE BIOLOGIA - UNESCO  
RED LATINOAMERICANA DE BOTANICA  
UNESCO  
UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO  
UNIVERSIDA DE CHILE  
UNIVERSIDAD DE LA SERENA  
UNIVERSIDAD DE TALCA  
UNIVERSIDAD DE VALPARAISO**

## CONFERENCIAS

GENÉTICA DE POBLACIONES HUMANAS DE ISLA DE PASCUA. (Human population genetics of easter island). Cruz-Coke, R. Sección Genética, Departamento de Medicina, Hospital Clínico Universidad de Chile.

Un modelo clásico de genética de poblaciones estatuye que el proceso de microevolución se desarrolla bajo la influencia de los efectos sistemáticos de la mutación, selección y migración, contra las fuerzas dispersivas del azar y de la endogamia. Se hace un análisis de las interacción de estos factores en la población nativa humana de la isla de Pascua. El genoma de los polimorfismos de los pascuenses tiene un tercio de sus loci en estado isogénico y las otras frecuencias genicas están fuertemente diferenciadas de las poblaciones polinesias, amerindias y europeas que comparten sus genes y culturas. La migración ha sido el factor evolutivo más poderosos para plasmar el genoma de los pascuenses. La hibridización acumulada durante un siglo alcanzaría un 60% de genes europeos, 58% de genes chilenos y 48% de genes polinesios. La consanguinidad nativa tribal era muy baja (exogámica), la cual ha aumentado con la relajación de las normas culturales. Así mismo la selección natural por diferencia de mortalidad se ha relajado y la población nativa ha aumentado su crecimiento y emigración de la isla. La exogamia y la migración se ha opuesto a los efectos negativos de la deriva genética (random drift). Todo este conjunto de factores evolutivos interactuantes está formando una nueva población híbrida con componentes étnicos de los pueblos parentales de Polinesia, América y Europa.

LAS VESÍCULAS SINÁPTICAS, ORGANOIDES DUALES EN EL ALMACENAMIENTO Y LA LIBERACIÓN DEL NEUROTRANSMISOR. (Synaptic vesicles as dual organelles in the storage and release of the neurotransmitter). Pellegrino de Iraldi, A. Instituto de Biología Celular, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Paraguay 2155, 1121 Buenos Aires, República Argentina.

El papel de las vesículas sinápticas en la neurotransmisión es materia de controversia. Esta se desarrolla habitualmente en el marco conceptual de la neurosecreción y las vesículas sinápticas son consideradas explícita o implícitamente como vesículas secretorias. En la hipótesis vesicular su contenido, de magnitud predeterminada, se libera de manera todo o nada, por exocitosis, en el espacio intersináptico, ante la llegada del impulso nervioso. La membrana vesicular incorporada a la membrana plasmática se recupera posteriormente por reciclamiento. En la hipótesis citoplásmica el neurotransmisor liberado por impulso nervioso no proveniría de las vesículas sinápticas, que serían sitios de almacenamiento del neurotransmisor o de depósitos de calcio, sino de citosol.

En nuestro laboratorio, observaciones morfológicas e histoquímicas en diferentes condiciones experimentales, utilizando una preparación monoaminérgica, son coherentes con la hipótesis de que las vesículas sinápticas son organoides activamente involucrados en el proceso del almacenamiento y de la liberación del neurotransmisor, que tienen una vida media prolongada durante la cual presentan variaciones funcionales, que pueden albergar fracciones de distinta estabilidad del neurotransmisor y que este puede ser liberado de las mismas por mecanismos calcio-independientes o calcio-dependientes, en la liberación espontánea o en la evocada por estimulación nerviosa o sus equivalentes. Expondremos esas evidencias experimentales.

FIBRAS OXYTALÁNICAS Y LA RESISTENCIA MECÁNICA DE ALGUNOS TEJIDOS INCLUSO LA MÉDULA ÓSEA (Oxytalan fibers improving mechanical properties to some tissues including bone marrow). Cotta-Pereira, G., Lucena, S.B., Iruela-Arispe, M.L., Mayer-da-Silva, A., & Cidadão, A.J. Department of Histology and Embryology, Institute of Biology, State University of Rio de Janeiro, Brazil.

Oxytalan fibers have been firstly described by light microscopy in periodontal tissue (Fullmer & Lillie, '58) as representing a new connective fiber different from collagen, reticular and elastic fibers. Using tannic acid-glutaraldehyde fixation, they have been observed in dermo-epidermal junction at the EM level as formed by bundles of elastic microfibrils without amorphous component, elastin (Cotta-Pereira et al., '76). The presence of oxytalan fibers has been correlated with mechanical properties of some tissues, as dermo-epidermal junction, suspensory ligament of the lens, tendons, ligaments, where resistance to mechanical stress is required. Such fibers, devoid of amorphous elastic material probably show a lesser tendency to elongate when compared with elastic fibers which possess abundant amorphous elastin, the protein responsible for their elastic properties (Cotta-Pereira & Iruela-Arispe, '88).

At the present, oxytalan fibers have been identified in human bone marrow by LM using selective stains for elastic tissue and immunoperoxidase detection of elastic microfibrils (monoclonal HB8) and by EM using TAG fixation. The occurrence of an oxytalan network in bone marrow is probably related to mechanical support for hemopoietic precursors by offering full contact between cells and other extracellular matrix components involved in hemopoiesis control.

THREE-DIMENSIONAL IMAGE COMPUTING WITH TANDEM-SCANNING AND LASER-SCANNING CONFOCAL MICROSCOPY. Schatten, G., Integrated Microscopy Resource for Biomedical Research, University of Wisconsin, Madison, WI 53706, USA.

Confocal microscopy offers considerable advantages for improved spatial and lateral imaging of fluorescence specimens, particularly for samples with overlapping structures which contribute to out-of-focus fluorescence. Laser-scanning confocal microscopy has been shown by several laboratories to be remarkably powerful in virtually eliminating out-of-focus artifacts and thereby increasing the signal to noise ratio. Fluorescence microscopy with the tandem-scanning reflected light microscope (TSM) offers several features not available with the laser-based instruments including real-time imaging with white-light and little or no spatial distortions. The use of conventional illumination sources permits the full selection of filter sets typically employed during conventional epifluorescence imaging, including dyes excited in the ultraviolet such as the DNA-binding dyes DAPI and Hoechst. While the fluorescence images obtained with the TSM are dim owing to the low-dose illumination, the application of a cooled charge-coupled device (CCD) permits high resolution recording of the low-light levels. Development progresses normally even during constant observation under the TSM, probably because the illumination intensity is quite low; this holds promise for living confocal studies with vital dyes. Eggs and embryos are ideal test material since the cells are large (ca. 100  $\mu$ m), since there are numerous overlapping microtubules which contribute to out-of-focus artifacts, and since the three-dimensional relationships are not well understood.

This lecture will serve as both a primer on confocal microscopy and three-dimensional image computing, as well as provide new results on motility and structural changes during fertilization. Supported by the NIH.

ADQUISICION Y MANTENIMIENTO DE LA POLARIDAD EN CELULAS EPITELIALES. Pedro J.I. Salas y Dora E. Vega-Salas. Inst. Luis F. Leloir. Fundación Campomar, Buenos Aires, Argentina.

La polaridad (asimetría) de células epiteliales en cultivo de tejidos (MDCK), se estudió empleando como marcadores anticuerpos monoclonales contra proteínas de la membrana plasmática. Se halló que proteínas apicales y basolaterales se polarizan con distintas cinéticas y dependiendo las primeras de contactos con el sustrato y las segundas de contactos célula-célula. Se halló, además, un compartimiento de almacenamiento de proteínas apicales (VAC), que representa un mecanismo regulador de la polaridad dependiente de contactos intercelulares. La polarización de marcadores apicales observada en células con uniones estrechas ("tight junctions") discontinuas pudo ser explicada, en parte por el anclaje específico de las proteínas de membrana al citoesqueleto, determinado por Recuperación de Fluorescencia después del Fotoborrado (FRAP) y extractabilidad en detergentes no iónicos. Mediante técnicas bioquímicas convencionales se determinó que los filamentos intermedios juegan un papel importante en la estructura del citoesqueleto que interviene en el mantenimiento del dominio apical. Estos resultados permiten concluir: a) que la polarización de la membrana plasmática en células epiteliales requiere la intervención de varios mecanismos diferentes, y no solamente de la separación de proteínas recién sintetizadas; b) que se requieren señales extracelulares, como los contactos con la célula vecina y con la membrana basal para marcar la topografía de la polaridad, y c) que filamentos intermedios y, posiblemente, actina juegan un papel central en el mantenimiento de la polaridad.

MADURACION DEL ESPERMATOZOIDE DURANTE EL TRANSITO EPIDIDIMARIO (Epididymal maturation of spermatozoa) Burgos M.H., IHEM. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

El espermatozoide que ingresa a las vías seminales extratesticulares es incapaz de desplazarse en forma adecuada y de fertilizar ovocitos.

Durante el tránsito epididimario adquiere la motilidad progresiva, modifica su morfología, experimenta notables variaciones en el contenido superficial de polipéptidos y glicoproteínas y adquiere la capacidad fertilizante.

Durante los cambios morfológicos que en algunas especies son muy relevantes cabe mencionar la modificación de la forma de la cabeza y en especial del acrosoma y una notable disposición del contenido acrosomal en zonas que se desplazan durante el tránsito epididimario hasta lograr una ubicación constante en el espermatozoide maduro.

Otro cambio significativo revelado por la criofracción de la membrana plasmática del espermatozoide es el notable aumento de las partículas intramembranas en la región postacrosomal. Estas partículas corresponden a proteínas intrínsecas de la membrana plasmática en relación probable con el reconocimiento y fusión intergamético.

Existen otras variaciones que se pueden seguir mediante el análisis electroforético e inmunocitoquímico de la membrana plasmática del espermatozoide. Estos estudios revelan que ciertas glicoproteínas secretadas por el epidídimo se incorporan a la superficie del espermatozoide y otras de procedencia testicular viajan enmascaradas hasta el final del tránsito epididimario haciéndose visibles en la región postacrosomal. Una efectiva interrelación gameto-epididimaria en ambos casos explicaría los cambios mencionados.

ELEMENTOS ESTRUCTURALES DE LA PARTICULA NUCLEOSOMICA QUE AFECTAN LA TRANSCRIPCION POR RNA POLIMERASA II. (Structural element in the nucleosomal particle affecting transcription by RNA polymerase II). Palacian, E. y González, P.J. Centro de Biología Molecular, C.S.I.C. y U.A.M., Madrid.

Los organismos eucarióticos utilizan como molde de transcripción DNA asociado a histonas. La cromatina activa en transcripción presenta alteraciones en su estructura nucleosómica que podrían tener por objeto facilitar este proceso. Utilizando partículas mononucleosómicas como moldes de transcripción in vitro, se ha determinado el efecto que producen sobre la síntesis de RNA distintas alteraciones estructurales que han sido relacionadas con la cromatina activa. Mientras que el octámero de histonas (H2A.H2B.H3.H4)<sub>2</sub> bloquea la transcripción, permitiendo sólo la síntesis de cadenas cortas de RNA (menos de 40 nucleótidos con "cores" nucleosómicos), la pérdida de un dímero H2A.H2B estimula notablemente este proceso, sintetizándose cadenas de RNA de alrededor de 140 nucleótidos. Otros cambios de la partícula nucleosómica, eliminación de los extremos aminoterminales de las histonas y unión de las proteínas no histónicas HMGS 14 y 17, no afectan apreciablemente la transcripción. Los resultados obtenidos sugieren que la partícula nucleosómica carente de un dímero H2A.H2B podría ser un intermediario durante la transcripción in vivo, al facilitar la acción de la maquinaria enzimática.

ORGANO SUBCOMISURAL Y LIQUIDO CEFALO-RAQUIDEO. (Subcommissural organ and cerebrospinal fluid). Rodríguez, E.M., Nualart, F., Rodríguez, S., Herrera, H. Instituto de Histología y Patología, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. El órgano subcomisural (OSC) es un órgano circumventricular del cerebro que secreta varias glicoproteínas al líquido cefalo-raquídeo (LCR) donde las mismas se condensan formando una estructura fibrosa, la fibra de Reissner (FR). La FR se extiende a lo largo del canal central de la médula espinal. En el OSC de bovino hay al menos cuatro glicoproteínas secretoras de un peso molecular aparente de 540, 450, 320 y 190 KD. El uso de anticuerpos obtenidos contra cada uno de los tres primeros compuestos y de lectinas en electrotransferidos indican que el compuesto de 540 KD es una forma precursora. Además este compuesto está presente en el OSC y ausente en FR. La síntesis, el procesamiento, transporte al polo ventricular y la liberación ocurren en 1 h. Un pool de material sintetizado queda almacenado en el RER por 4-5 días. El material liberado al LCR hace que la FR crezca cuadalmente a un ritmo del 7% de su longitud, por día. Caudalmente el material que compone la FR se desagrega y alcanza vasos sanguíneos. El desconocimiento total de la función del OSC nos llevó a desarrollar 3 modelos experimentales: a) anticuerpos contra productos secretorios del OSC inyectados al LCR se unen selectivamente al material que el OSC libera al LCR. Ellos resulta en la desconexión de la FR del OSC y en la fragmentación de dicha fibra. El animal carece de FR por al menos 2 semanas; b) ratas con hidrocefalia experimental no forman FR, el material secretorio inactivo del OSC disminuye y los capilares sanguíneos del OSC sufren grandes cambios; c) el OSC transplantado bajo la cápsula renal, aunque continúa secretando hacia cavidades neoformadas, no forma FR. Se concluye que el LCR participa en la formación de la FR, y que ésta puede influenciar la circulación de LCR. Grants: S.Volkswagenwerk, F.R.G., 1/63-476, FONDECYT 0890-88, D.I. U.A.CH. S-89-01.

HOW PLANTS GROW IN OUTER SPACE: THE INFLUENCE OF MICROGRAVITY ON CELLULAR AND SUBCELLULAR DIFFERENTIATION. Randy Moore, Department of Biological Sciences, Wright State University, Dayton, OH 45435 USA.

I used the Space Shuttle Columbia to determine how microgravity influences cellular and subcellular differentiation in plants. Specifically, I launched imbibed seeds of onion, corn, and mustard spinach into outer space. Seedlings were fixed in microgravity for ultrastructural analysis approximately 5 days after launch. Microgravity significantly alters cellular differentiation in plants. For example, cells differentiating in microgravity seedlings grown in microgravity allocate significantly larger relative volumes to hyaloplasm and lipid bodies, and significantly smaller relative volumes to plastids, mitochondria, and dictyosomes. These changes in cellular differentiation correlate with altered cellular function. For example, dictyosomes produce and secrete mucilage from peripheral cells of root caps. The smaller relative volume of dictyosomes in peripheral cells of flight-grown seedlings correlates with reduced production and secretion of mucilage. Microgravity also induces subcellular changes during cellular differentiation. For example, plastids in flight-grown seedlings contain significantly less starch than Earth-grown seedlings.

MECHANISM OF PROTEIN STABILIZATION BY SOLVENTS. Timasheff, S.N. Graduate Department of Biochemistry, Brandeis University, Waltham, MA 02254-9110, U.S.A.

The equilibrium between the native, active structure and the denatured one in the protein refolding process is determined by a fine balance of environmental factors, one of which is the nature of the solvent medium. Studies have been carried out on the interactions of globular proteins with denaturing solvents, such as urea and guanidine hydrochloride, and stabilizing solvents, such as sugars and precipitating salts. In the denaturation reaction, the net effect of a solvent is a resultant of such interactions with the protein in the two end states. In the case of denaturing solvents the proteins in the unfolded state interact preferentially with the denaturant. Stabilizers, on the other hand, are excluded from the domain of protein molecules in both end states of the reaction, i.e. the preferential interaction is that of hydration. A particularly interesting class consists of solvents which are preferentially excluded from proteins in the folded globular state, but bind preferentially to the unfolded state. Factors which determine such interactions have been established for a variety of solvents. These include the increase of the surface free energy of water by addition of a stabilizer, steric exclusion, solvophobicity, repulsion by charged groups, attraction or repulsion by non-polar and polar regions on the protein surface. (This work was supported in part by NIH Grants GM-14603 and CA-16707).

REGULACION DE LA VARIABILIDAD DEL PAISAJE EN HABITATS INTERMAREALES EXPUESTOS DE CHILE CENTRAL. (Regulation of landscape variability in wave-exposed rocky intertidal habitats of Central Chile). Santelices, B. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Integración de resultados de estudios experimentales con algas marinas permiten aproximar el problema de la determinación del paisaje en ambientes intermareales, donde a menudo éste es considerado como altamente variable. En hábitats expuestos de Chile Central existe zonación de morfologías de algas más bien que una zonación estricta de especies. Los límites superiores e inferiores de cada zona están determinadas por interacción de factores, cuya importancia relativa cambia rápidamente en espacio y tiempo. Cuando se remueven los factores que restringen la distribución de una especie dada, otros factores -generalmente ignorados o considerados como secundarios- se hacen limitantes. Al interior de cada zona, las interacciones competitivas son simétricas pero ellas son generalmente asimétricas entre dos zonas. A pesar de notables diferencias morfológicas, todas las formas dominantes combinan adaptaciones que les permiten escapar de pastoreo con atributos que determinan alta capacidad competitiva. Sin embargo, entre estas formas existe una clara jerarquía competitiva que se expresa en desplazamientos verticales y zonación, siendo los niveles más bajos de la playa posibles de ser ocupados potencialmente por cualquier tipo de alga. La existencia de jerarquías competitivas, el control abiótico de la distribución de especies, la aparición de factores secundarios que limitan distribución y los cambios de signo en interacciones interespecíficas reducen la variabilidad posible del paisaje y permiten alguna predicción en estos hábitats.

DEGRADACION DE LA LIGNINA: PROYECCIONES BIOTECNOLOGICAS. (Degradation of lignin: biotechnological applications). Vicuña, R. Unidad de Microbiología y Genética Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad de Chile. Casilla 114-D. Santiago, Chile.

La lignina es un polímero aromático, estereoirregular que protege y confiere rigidez a la pared de la célula vegetal. En la naturaleza, es degradada por algunas especies de hongos, los que la mineralizan a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . Las bacterias no son muy eficientes atacando la lignina polimérica, aunque sí degradan intermediarios metabólicos liberados por los hongos.

Diversas peroxidases de hongos, algunas de ellas dependientes de Mn, parecen jugar un rol en la depolimerización de la lignina. Sin embargo, al contrario de los resultados obtenidos in vivo, hasta hoy día los intentos de depolimerizar lignina in vitro han resultado infructuosos. Por otra parte, se han descrito recientemente dos enzimas bacterianas que rompen enlaces típicos en modelos de lignina de bajo peso molecular.

La degradación microbiana de la lignina ofrece proyecciones biotecnológicas. En efecto, la íntima relación de la lignina con la celulosa dificulta los procesos de pulpeado de la madera. Mas aún, la obtención de pulpa de alta calidad exige una etapa final de blanqueamiento, consistente en la remoción de restos de lignina, proceso que resulta en la eliminación de compuestos tóxicos a través de efluentes. En años recientes se han producido interesantes avances en biopulpeado, bioblanqueamiento y tratamiento de efluentes, los que aparte de ser procesos no contaminantes, tienen un requerimiento energético significativamente menor que los tradicionales.

# Simposios

## SIMPOSIO TRANSPORTE DE CALCIO Y FUNCION CELULAR

Coordinador: *Benjamín Suárez*

**CALCIUM TRANSPORT AND CELLULAR FUNCTION (Symposium 1)**  
**Suárez, B.** Centro de Estudios Científicos de Santiago  
 y Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de  
 Medicina, Universidad de Chile.

Calcium plays a central role in the regulation of cell function.  $Ca^{2+}$  is compartmentalized and the free intracellular  $Ca^{2+}$  concentration can fluctuate over several orders of magnitude during a cell functional cycle. Specific mechanisms maintain resting  $Ca^{2+}$  concentrations or elicit rapid changes of intracellular  $[Ca^{2+}]$  in response to extracellular stimuli. Calcium homeostasis is finely tuned by the interplay of different transport systems (carriers and channels) present in the cell membrane or in the membranes of intracellular organelles such as the endoplasmic (ER) or sarcoplasmic reticulum (SR), that are activated and/or modulated by a variety of effectors.

In neurons, an increase in intracellular  $[Ca^{2+}]$  is normally triggered by depolarization of the cell membrane that activates voltage dependent calcium selective channels. Very recent evidence also suggests a contribution from intracellular  $Ca^{2+}$  release. In cardiac muscles,  $Ca^{2+}$  influx via voltage dependent calcium channels, Na/Ca exchanger and intracellular  $Ca^{2+}$  release from the SR contribute to the elevation of internal free  $[Ca^{2+}]$  during the excitation-contraction coupling process. In skeletal muscle, in contrast, major changes in  $[Ca^{2+}]$  take place as a consequence of  $Ca^{2+}$  release from the SR.

This symposium will discuss the regulation mechanisms of the calcium transports systems and their relevance to cell function.

Supported in part by Proyecto FONDECYT 89-902.

**EVIDENCE FOR CA-INDUCED CA RELEASE IN ISOLATED RAT CARDIAC MYOCYTES.** Eisner, D.A., O'Neill, S.C., Donoso, P. & Valdeomillos, M. Department of Physiology, University College, London.

We have investigated the extent to which Ca-induced Ca release is involved in cardiac contraction. The following results were obtained. Removal of extracellular Ca immediately abolished both the Ca current and contraction. There are two explanations for this: (a) the sarcoplasmic reticulum has been depleted of Ca or (b) the Ca current is required to initiate Ca-induced release of Ca from the s.r. We have measured the Ca content of the s.r. from the magnitude of the release of Ca produced caffeine. This was not decreased by exposure to Ca-free solution showing that the s.r. still contains Ca. This supports hypothesis (b).

Ca-induced Ca release has been demonstrated directly by releasing Ca rapidly using the "caged" Ca containing compound nitr-5. This contraction was abolished by ryanodine showing the involvement of the s.r.

Finally, we have examined the mechanism of action of caffeine on both Ca release and contraction. The data indicate that (i) caffeine probably acts via sensitizing the Ca-induced Ca release to Ca and (ii) that the effects of caffeine on contraction result from a combination of elevated  $(Ca^{2+})_i$ , and a direct effect of caffeine on the contractile machinery.

**ACTIVATION MECHANISMS OF CALCIUM CHANNELS FROM SARCOPLASMIC RETICULUM OF SKELETAL MUSCLE.** Bull, R. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Calcium channels have been detected in isolated membranes from sarcoplasmic reticulum (SR) from frog muscle. Several lines of evidence indicate that these conductances participate in calcium release during excitation-contraction coupling. High conductance channels present in rabbit and frog SR are activated by ATP and calcium applied at the myoplasmic side and blocked by magnesium and ruthenium red. The channels present in SR membranes from the frog are activated by micromolar concentrations of (1,4,5)-inositol trisphosphate, a postulated internal agonist of EC-coupling. This drug increases fractional open time in a concentration dependent manner without effect on single channel conductance. Gating and conductance of the same channel are modified by nanomolar concentrations of ryanodine, a plant alkaloid that elicits irreversible contractures.

SR membranes from frog muscles also contain another channel selective for calcium and barium, insensitive to calcium and ATP or InsP3 but activated by caffeine.

The available evidence favors the view that the calcium channels from the SR are agonist-activated conductances. Endogenous or exogenous agonists activate the channels by increasing fractional open time without alteration of single channel conductance. Channel activation results mainly from the concentration dependent decrease of closed time intervals.

Supported by Grants FONDECYT 88-972 and 89-902, NIH Grant GM-35981.

**SUBCELLULAR DYNAMICS OF  $Ca^{2+}$  MOBILIZATION FOLLOWING PULSED GRID TRANSDUCER  $Ca^{2+}$  RELEASE FROM INTRACELLULAR POOLS IN HULLFROG SYMPATHETIC NEURONS.** Arturo Hernández-Cruz. Dept. of Neurosciences, Roche Institute of Molecular Biology, Nutley, NJ. 07110, USA. and Instituto de Neurociencias, UNAM, Mexico City.

A combination of laser scanned confocal microscopy (LSCH) and digital image processing was applied to monitor spatiotemporal  $[Ca^{2+}]_i$  gradients in voltage-clamped isolated bullfrog sympathetic neurons. Recordings were made in the whole-cell mode and fluorescent indicators (Fluo-3 or Rhod-2, 200  $\mu$ M) were applied through the pipet to observe steady and rapidly dissipating  $[Ca^{2+}]_i$  gradients. Application of a single voltage step, revealed an inward decaying wave of increased  $[Ca^{2+}]_i$  which reached the center of the cell in about 300  $\mu$ s.  $Ca^{2+}$  signals in the nucleus were consistently larger and decayed more slowly. A similar pattern was observed when intracellular Ca-release was induced by caffeine (CAF). Measurements of macroscopic Ca-activated K currents ( $I_{(Ca)}$ ) were conducted to monitor changes in subsurface  $[Ca^{2+}]_i$  ( $V_m = -35$  mV). Pressure-ejection of 10  $\mu$ M CAF produced a transient increase of  $I_{(Ca)}$ . Short applications (10-200 ms) produced small responses that were additive. Longer pulses elicited a very steep increase of the response, which saturated with 1-2 sec exposures. Large responses exhibited a refractory period of several minutes suggesting depletion and subsequent reuptake. Changes in  $Ca^{2+}$  were not homogeneous suggesting regional variations in density of release sites. Dantrolene (100  $\mu$ M), procaine (2mM) and ryanodine (5  $\mu$ M), blockers of Ca-release in skeletal muscle, had similar effects in neuronal  $Ca^{2+}$  release. Surprisingly, ruthenium red (30  $\mu$ M) did not block the release, but delayed the reuptake, producing  $Ca^{2+}$  and  $I_{(Ca)}$  responses which lasted for several minutes. At present, we investigate the pharmacology of Ca-release from the CAF-sensitive pool.

## SIMPOSIO DIFERENCIACION Y DESARROLLO EMBRIONARIO

Coordinador: *Eduardo Bustos*

REGULACION DE LA SINTESIS DE PROTEINAS DURANTE EL DESARROLLO INICIAL DEL RATON. (Regulation of protein synthesis during early development of the mouse).

Luis Izquierdo y Roberto Mayor. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La capacidad de regulación del embrión inicial de ratón sugiere que su desarrollo, antes de la blastulación, no se representaría tan bien por un programa lineal de expresión génica como por una red de eventos genéticos y epigenéticos en equilibrio. Sin embargo, nuestros resultados revelan que los agentes que inhiben la replicación del DNA afectan el patrón de síntesis proteica mientras que las modificaciones de la forma celular causada por agentes que interfieren con la compactación de la mórula no afectan dicho patrón en forma significativa. Se interpreta éstos y otros resultados de acuerdo con diversas concepciones de la diferenciación celular y morfogénesis.

REMODELACION DE CROMATINA DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO DE ERIZOS DE MAR. (Remodeling of chromatin during early developmental stages of sea urchin). Sachonchitzky, M., Puchi, M., Montecinos, M., Gutiérrez, G. Depto. de Biología Molecular, Universidad de Concepción, Chile.

Durante las primeras etapas del desarrollo de equinodermos tres grupos de genes para histonas son secuencialmente expresados, las variantes CS, desde la fecundación hasta el estado de 10 blastómeros, las variantes tempranas, mayoritarias entre 16 blastómeros y blastula y las variantes tardías, preponderantes después de la eclosión. Estos grupos difieren entre sí tanto en la organización de los genes que los codifican como en la microheterogeneidad de variantes homólogas. En el presente trabajo se describen las características de las proteínas cromosomales que conforman la cromatina en oocitos y al comienzo del desarrollo las cuales son comparadas con las presentes en estados larvales. Los resultados obtenidos pueden resumirse como sigue: durante las primeras etapas de segmentación la cromatina está conformada por partículas nucleosomales atípicas, formadas a lo menos por 7 variantes CS diferentes entre sí que presentan un carácter menos básico que las histonas tradicionales, estas variantes se encuentran ADP-ribosiladas y acetiladas. Interaccionan con 123 p.b. de ADN y prevalecen en estados larvales de desarrollo aunque muy diluidas por variantes larvales. El componente de MNCP es muy heterogéneo y no presenta diferencias muy significativas durante los primeros estados de segmentación. Al igual que las histonas CS, algunas proteínas ácidas se encuentran ADP-ribosiladas y prevalecen en cromatina en etapas larvales de desarrollo. En contraste con las variantes CS las etapas larvales contienen una cromatina formada mayoritariamente por histonas clásicas cuya microheterogeneidad varía en diferentes estados larvales, sin embargo, la similitud de las composiciones aminoácidas sugiere que las diferencias observadas se deben a modificaciones post-traduccionales de estas histonas. El conjunto de estos resultados indica que durante el desarrollo embrionario temprano la cromatina adquiere una estructura en mosaico en la cual están representadas la mayor parte de las proteínas cromosomales en función del tiempo y cantidad que han sido expresadas durante el desarrollo. Se desconoce a la fecha si existe selectividad en distribución espacial de las diferentes proteínas cromosomales en los diferentes territorios del embrión. Proyectos FONDECYT 0789-88. U. de Concepción 203117 y 203111.

The preservation of mammalian germplasm. D.G. Whittingham, MRC Experimental Embryology & Teratology Unit, St. George's Hospital Medical School, Cranmer Terrace, London, SW17 0RE.

In 1949, Drs. Polge, Smith and Parkes (Natural Institute for Medical Research, U.K.) discovered the protective action of glycerol on the spermatozoa of several species during freezing and thawing. Within the next 10 years, the preservation of bull spermatozoa became an established routine technique in cattle breeding programmes. During subsequent years, many other cells and tissues have been successfully stored at low temperatures and cryobiology has become a recognised scientific discipline investigating the mechanisms involved in the preservation of life and the causes of death at low temperature. In 1972 the preservation of mammalian embryos became a reality. Dr. Wilmut (AFRC, Cambridge, U.K.) and Drs. Whittingham (Cambridge University, U.K.), Leibo and Mazus (Oak Ridge National Laboratory, U.S.A.) showed that mouse embryos under the protection afforded by dimethyl sulphoxide can survive freezing to temperatures as low as -269°C (liquid helium) and produce normal fertile offspring after transfer to the reproductive tract of recipient foster mothers. In 1977, Dr. Whittingham reported the first successful storage of mouse oocytes at -196°C with the birth of live offspring from frozen-thawed oocytes fertilized *in vitro*.

Recent success with the freezing of primary ovarian follicles and the production of mature oocytes in extra ovarian sites provides a potential source of female gametes hitherto unavailable in the mammal.

Over the intervening years it has become clear that gamete and embryo storage techniques are not only confined to biomedical research, but they have far reaching practical uses in the agricultural industry, the conservation of rare breed and endangered species and in the treatment of certain forms of infertility.

LA OVOGENESIS DE LAS RANAS MARSUPIALES DE AMERICA LATINA: NUEVOS MODELOS PARA VERTEBRADOS (Oogenesis of the marsupial frogs from Latin America: New vertebrate patterns). del Pino, E. M. Departamento de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.

En la rana marsupial *Gastrotheca riobambae* hemos encontrado que el patrón del desarrollo temprano y su velocidad se encuentran profundamente alterados en comparación con otras ranas, como por ejemplo *Leptopus laevis*. La incubación materna en *Gastrotheca* se encuentra acompañada por un incremento notable en el tamaño del huevo, lo cual, a su vez está acompañado por los cambios del patrón de desarrollo. Por otro lado, la velocidad del desarrollo temprano es comparable a la del ratón, debido a la protección materna. El desarrollo temprano de los animales, viene ya programado en el huevo. Por tanto, es de esperarse que la ovogénesis se encuentre profundamente alterada en las ranas marsupiales. Nuestro trabajo ha demostrado que a diferencia con *X. laevis*, durante la ovogénesis de *G. riobambae* se acumulan cantidades muy pequeñas de rRNA, como resultado de una modesta amplificación de los genes ribosomales (rDNA). La baja amplificación del rDNA se refleja también en el número limitado de nucleolos con que cuenta el oocito de *Gastrotheca*. La baja cantidad de rRNA está asociada al desarrollo más lento, como en los mamíferos, en los cuales el oocito no amplifica el rDNA y la cantidad de rRNA acumulada es pequeña. Existen, sin embargo, ranas marsupiales cuyo desarrollo ocurre a velocidad alta. La aceleración del desarrollo ha sido posible por un incremento en las reservas de RNA del huevo, debido a que se ha incrementado el número de núcleos en el oocito, como en *Flectonotus pygmaeus*, en donde los oocitos tempranos son multinucleados con 2.000 núcleos o más por oocito.

## SIMPOSIO EXPRESION GENICA EN TRIPANOSOMATIDOS

Coordinador: *Norbel Galanti*

**SIMPOSIOS: EXPRESION GENICA EN TRIPANOSOMATIDOS Y BIOLOGIA CELULAR DE PROTOZOOS** (Gene expression in Trypanosomatids and Cell Biology of Protozoa). Cazzulo, J. J.\* y Galanti, N.\*\* Coordinadores. \*Instituto de Investigaciones Bioquímicas, Fundación Campomar, Buenos Aires, Argentina y \*\* Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La Biología Celular y Molecular de Tripanosomátidos ha abierto caminos insospechados para la Biología y la Genética. Así, desde el descubrimiento del DNA en mitocondrias hasta la edición de transcritos en esos mismos organelos, estos protozoos se han convertido en fuente permanente de nueva información. Problemas tan interesantes como las peculiares transformaciones fenotípicas en diferentes ambientes, los intrincados y finos mecanismos de evasión de la respuesta inmune del huésped, la división mitótica sin condensación de la cromatina, la organización de ribosomas en base a numerosas partículas de rRNA de tamaños diversos, la transcripción discontinua del mensaje genético, la asignación de ciertos genes a fragmentos de DNA denominados "minicromosomas", convierten a los tripanosomátidos en uno de los centros de la investigación biológica. Sumado a lo anterior esta el hecho que muchos de ellos constituyen un grave problema de salud para la población humana y una importante fuente de pérdida de recursos animales y vegetales.

En dos simposios, se tratarán temas tales como mecanismos de glicosilación de proteínas, enzimas de superficie en la interacción parásito-huésped, actividad de proteinasas, enzimas de replicación del DNA, genes que codifican para antígenos específicos y mecanismos de diferenciación celular de estos protozoos. Esta diversidad temática es un reflejo de la intensa investigación que se desarrolla en Iberoamérica en torno a estos protozoos parásitos.

**METABOLISMO DE POLIAMINAS EN TRIPANOSOMATIDOS** (Polyamine metabolism in trypanosomatids). Algranati, I.D.; Sánchez, C. y González, M.S. Instituto Luis F. Leloir "Fundación Campomar", Buenos Aires, Argentina.

Las poliaminas desempeñan un rol esencial en la proliferación y diferenciación celular. Recientemente se ha demostrado que algunos inhibidores de la biosíntesis de poliaminas bloquean la multiplicación de *Trypanosoma brucei* y pueden curar infecciones producidas por este parásito. Por esta razón se ha iniciado el estudio del metabolismo de poliaminas en otros parásitos como *T. cruzi* y *L. mexicana* con el objetivo de investigar la posibilidad de la utilización de drogas antipoliamicas en la quimioterapia de la Enfermedad de Chagas y en Leishmaniasis.

Se utilizaron epimastigotes de *T. cruzi* y promastigotes de *L. mexicana* para medir la velocidad de entrada de varias poliaminas y amino ácidos básicos, como así también la conversión *in vivo* de arginina, ornitina y lisina en poliaminas. Los niveles endógenos de poliaminas y la actividad de las descarboxilasas de ornitina y arginina se determinaron en extractos celulares en condiciones adecuadas para cada caso.

Los resultados indicaron que espermidina y espermina son las poliaminas más abundantes en *T. cruzi*, mientras en *Leishmania* la relación putrescina : espermidina es aproximadamente 4:1. Se ha detectado elevada actividad de ornitina descarboxilasa en *L. mexicana*. En cambio en *T. cruzi* sólo existen trazas de esta enzima y de arginina descarboxilasa. El estudio de las propiedades de la ornitina descarboxilasa de *Leishmania* indicó que es estable, a diferencia de la enzima de células de mamífero. Los datos obtenidos permiten concluir que en *T. cruzi* gran parte de las poliaminas son tomadas del medio de cultivo y en *L. mexicana* son preferentemente sintetizadas por el parásito. Este hecho permitiría utilizar inhibidores de la síntesis de poliaminas para bloquear la proliferación de la *Leishmania*.

**QUINASAS DE PROTEINAS EN *Trypanosoma cruzi*** (Protein kinases in *Trypanosoma cruzi*). Tellez-Iñigo, N.L.; Gómez, R.L.; Ulloa, R.M.; Erijman, L. y Jorres, H.M. Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular, Buenos Aires, Argentina.

El proceso de diferenciación en *Trypanosomas* de formas epimastigotes a tripomastigotes está asociado a un aumento intracelular de AMP cíclico y las bases moleculares de este proceso son poco conocidas. En nuestro laboratorio se caracterizó una quinasa de proteínas dependiente de AMP cíclico (PKA) en formas epimastigotes de *T. cruzi*.

Extractos citosólicos del parásito se cromatografiaron por DEAE celulosa y se obtuvieron dos fracciones con actividad de quinasa de proteínas. La fracción que eluye a 0.32M de NaCl (PKII) se estimula con concentraciones nanomolares de AMP cíclico y posee capacidad de unir específicamente al nucleótido, mientras que la actividad de quinasa observada a 0.15M de NaCl no se activa con AMP cíclico ni tiene capacidad de unirlo.

La holoenzima PKII se disoció en el componente regulatorio y el catalítico. Estos componentes reconstituyen un sistema homólogo y heterólogo con subunidades purificadas de corazón bovino RII y C. El AMP cíclico revierte en ambos casos la inhibición provocada por la subunidad R. En ausencia de aceptor de fosfatos, la holoenzima se autofosforila en un polipéptido de 56kD. Esta proteína es reconocida en Western blots por un anticuerpo policlonal contra la subunidad regulatoria tipo II de corazón.

A su vez en las formas epimastigotes se caracterizó una quinasa de proteínas tipo C, dependiente de  $Ca^{2+}$  y fosfolípidos. La enzima requiere  $Ca^{2+}$  y fosfatidil serina para su actividad y se encuentra parcialmente soluble y pegada a membranas. Ambas enzimas se purificaron y adsorbieron en columnas de fenil-sepharosa en presencia de  $Ca^{2+}$  y se eluyeron con EGTA. La quinasa C asociada a membranas como la fracción soluble presentan las mismas características : fosforilan preferencialmente histona H1, se estimulan por diacilglicerol y ésteres de forbol y se inhiben por polimixina B y estaurosporina.

Por fraccionamiento subcelular la PKC se encuentra asociada con microsomas y fracción citosólica, a diferencia de la PKA que es citosólica.

Estas evidencias adicionales a la regulación de la fosfodiesterasa de *T. cruzi* por  $Ca^{2+}$ -calmodulina indican que el sistema regulatorio que involucra segundos mensajeros es semejante en el parásito al de células de mamíferos.

**ORGANIZACION DE LOS GENES QUE CODIFICAN ANTIGENOS DEL TRIPANOSOMA CRUZI** (Organization of genes encoding *Trypanosoma cruzi* antigens). Macina, R.A.; Affranchino, J.L.; Pollevick, G. and Frasch, A.C.C. Fundación Campomar, Buenos Aires, Argentina.

En trabajos previos del laboratorio se clonaron genes de *T. cruzi* que codifican antígenos del parásito y que son reconocidos por sueros obtenidos de pacientes en el período agudo y crónico de la Enfermedad de Chagas (Ibáñez y col. Mol. Biochem. Parasitol. 25 : 175, 1987; Mol. Biochem. Parasitol. 30 : 27, 1988 y Affranchino y col. Mol. Biochem. Parasitol. 34 : 221, 1989). La secuencia de ocho de estos genes demostró que están formados por repeticiones iguales que varían entre 15 y 204 nucleótidos de acuerdo al gen considerado. Dos de estos genes, denominados SAPA (por Shed Acute Phase Antigen) y \*30 fueron analizados en 15 aislamientos del parásito obtenidos en Bolivia, Brasil y Argentina. SAPA está constituido por una familia de 4 a 6 genes homólogos, la mayoría de ellos presentes en todos los aislamientos analizados. Se observó una gran heterogeneidad en el tamaño de los fragmentos de restricción entre los parásitos estudiados. Esta heterogeneidad se debe principalmente a la diferencia en el número de repeticiones presentes. Este resultado se confirmó luego del estudio de tres genes clonados homólogos a SAPA, los que poseían 14, 33 y 47 unidades repetidas. El segundo gen analizado, número 30, también varía en cuanto al número de repeticiones entre cepas, lo que se correlacionó con diferencias en los tamaños de los ARN mensajeros y las proteínas correspondientes. Estos resultados indican que antígenos homólogos pueden variar en tamaño entre cepas de *T. cruzi* debido a que los genes que las codifican poseen un número variable de unidades repetidas.

Estudios sobre la síntesis de DNA y DNA polimerasas en formas epimastigotas y tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*. (Studies of DNA synthesis and DNA polymerases on *T. cruzi* epimastigote and tripomastigote forms).

A. Solari, J. Venegas y C. Rojas.  
Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina,  
Universidad de Chile, Casilla 70086, Stgo. 7

El parásito *Trypanosoma cruzi* es el agente causal de la enfermedad de Chagas, el cual posee un ciclo biológico con múltiples formas celulares.

Existe una forma proliferativa o epimastigota en el huésped invertebrado y una forma no proliferativa o tripomastigota en la sangre del huésped vertebrado. Con el propósito de estudiar la regulación de proliferación durante la transición epimastigote-tripomastigote, hemos montado el método de diferenciación celular desarrollado por: V. Contreras y S. Goldenberg con la cepa de *T. cruzi* LQ. Los resultados indican que las formas tripomastigotas no poseen la capacidad de sintetizar DNA de acuerdo al test de incorporación de [<sup>3</sup>H] Timidina en DNA, sin embargo, ellas presentan una actividad total de DNA polimerasas equivalente a la encontrada en formas epimastigotas. Resultados de purificación y caracterización de las DNA polimerasas de epimastigotes indican que existen al menos dos formas de DNA polimerasas distinguibles por varios criterios. Estudios de síntesis de DNA por autorradiografía sugieren que al menos una de las DNA polimerasas nucleares de las formas epimastigotas sería sensible a afidicolina, agente conocido como potente inhibidor de las DNA polimerasas  $\alpha$  y  $\beta$  de mamíferos financiado por PNUD/World Bank/WHO y UNIVERSIDAD DE CHILE.

(Immunocytochemical localization of sugar-binding proteins, neuraminidase and cloned antigens in *Trypanosoma cruzi*). De Souza, W. - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil.

In the last years new advances in the immunocytochemistry field opened the possibility for the high resolution localization of macromolecules using gold-labeled probes. Using neoglycoproteins evidences were obtained for the existence of lectin-like substances on the surface of tripomastigote, but not in epimastigote and amastigote forms, which recognize N-acetyl-glucosamine and D-galactose. These observations are discussed in relation to the effects exerted by some monosaccharides and lectins on the process of *T. cruzi* - host cell interaction. Neuraminidase was located on the surface of the tripomastigote-amastigote transition form which is infective. Evidences were obtained showing that this enzyme, which seems to be involved in the process of infection of vertebrate cells by *T. cruzi* is secreted through the flagellar pocket of tripomastigotes. We used some polyclonal antibodies obtained by Frash and co-workers against antigenic proteins encoded by six recombinant DNA clones and the results obtained showed that one of the antigens, which has a high molecular weight and contains tandemly repeated aminoacid sequence motifs which are recognized by sera from patients with Chagas's disease, as located in the region of flagellum-cell body adhesion.

Work supported by WHO, FINEP, CNPq and FAPERJ.

## SIMPOSIO BIOLOGIA CELULAR DE PROTOZOOS

Coordinador: Juan José Cazzulo

N-GLICOSILACION DE PROTEINAS EN MAMIFEROS Y PROTOZOARIOS: DIFERENCIAS Y SIMILITUDES. (Protein N-Glycosylation in mammals and protozoa. Differences and similarities). Farodi, A.J. Fundación Campomar, Buenos Aires, Argentina.

Tres tipos de oligosacáridos son transferidos de derivados de dolicol-P-P a proteínas en protozoarios: a) el oligosacárido completo (Glc3Man9GlcNAc2), lo mismo que en células de mamíferos, plantas, insectos y hongos de tipo salvaje, es transferido en *Euglena gracilis*; b) Glc3Man5GlcNAc2 es el compuesto transferido en *Tetrahymena pyriformis* y *T. thermophyla*, lo mismo que en la línea celular de linfocitos murino Thy-1. Diferenciando de estas células, ambas tetrahymenae formaron dolicol-P-Man tanto *in vivo* como *in vitro* pero resultaron deficientes en todas las manosiltransferasas dependientes de dolicol-P-Man. Como no se encontró manosilación de residuos Ser/Thr en ambas tetrahymenae, estos resultados sugieren que dolicol-P-Man estaría involucrado en la síntesis de algún otro gliconjugado desconocido; c) en tripanosomátidos oligosacáridos no glucosilados son transferidos a proteínas (Man 6,7,9 GlcNAc2, dependiendo de las especies). Estos protozoarios son deficientes en la formación de dolicol-P-Glc, y algunas especies también en ciertas manosiltransferasas dependientes de dolicol-P-Man. Se encontró que la oligosacariltransferasa de tripanosomátidos transfiere, en ensayos libres de células, Glc1-3Man9GlcNAc2 y Man7-9GlcNAc2 a la misma velocidad mientras que la enzima de mamíferos y hongos transfiere Glc3Man9GlcNAc2 en forma preferencial. Las glicoproteínas de tripanosomátidos, al igual que las de mamíferos, plantas y hongos resultaron ser glucosiladas transitoriamente en el retículo endoplásmico.

Apoyado por UN/WB/WHO-ITDR, CONICET (ARG.) y UBA (ARG.)

CISTEIN PROTEINASAS EN *Trypanosoma cruzi* (Cysteine proteinases in *Trypanosoma cruzi*). Cazzulo, J.J. Instituto de Investigaciones Bioquímicas Fundación Campomar, A. Machado 151, 1405 Buenos Aires, Argentina.

Hemos purificado hasta homogeneidad proteica una cistein-proteinasa a partir de epimastigotes de la cepa Tul 2 de *T. cruzi*. Es una glicoproteína monomérica, con un peso molecular de 60 KDa. Contiene aproximadamente 10% de carbohidrato, del tipo de alfa manosa. Hemos determinado su composición en aminoácidos, y la secuencia de 32 aminoácidos del extremo N-terminal, así como de un péptido triptico interno; estas partes de la molécula presentan un 65% de identidad con la papaína y la catepsina L de mamífero. Un segundo componente difuso (PM 25 a 35 kDa), presente en algunas preparaciones, es un producto de degradación de la enzima, pues al menos dos de las bandas presentan la misma secuencia N-terminal del polipéptido original de 60 kDa. La enzima es activada por 2-mercaptoetanol, ditiotreitól y glutatión reducido, e inhibida por E-64, TLCK, organomercuriales y leupeptina. La proteinasa es capaz de degradar proteínas, como azocaseína, seroalbúmina, hemoglobina, fibrinógeno e IgG, y sustratos sintéticos con grupos cromogénicos; en este último caso, la unión que se rompe incluye el carboxilo de Arg o Lys. Por electroforesis en geles de poliacrilamida conteniendo fibrinógeno, y por revelado de Western blots de extractos totales del parásito con un antisuero contra la enzima purificada, observamos que esta proteinasa, para la cual proponemos el nombre de "cruzipaina", es la principal cistein proteinasa presente en epimastigotes de diferentes cepas y clones del parásito, y también, aunque en menores niveles, en amastigotes y tripomastigotes.

Subsidiado por TDR/DMS, SAREC Y CONICET.

## SIMPOSIO TRANSDUCCION DE SEÑALES

Coordinador: Richard Foster

**TRANSDUCCION DE SEÑALES (SIGNAL TRANSDUCTION).** Simposio 5. Foster, R. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, División Ciencias Médicas Norte, Universidad de Chile.

El cambio, de un instante a otro, en la expresión de la conducta de una célula, es el resultado de la activación de sistemas de señales que transfieren información desde la superficie celular al interior, los cuales, usando un repertorio molecular mínimo, representado por los segundos mensajeros, regulan un variado número de respuestas celulares. No es de extrañar entonces que, cuando un músculo se contrae una célula adrenal secreta o un oocito fertilizado, los mensajeros secundarios, mediadores de la acción sean los mismos. Así, estos sistemas de señales, tienen un carácter universal. La información, transducida por proteínas G, está mediada por al menos dos grandes sistemas de segundos mensajeros: Uno, representado por el inositol trifosfato (IP<sub>3</sub>) y diacilglicerol (DAG), y otro representado por el adenosin monofosfato cíclico (AMPC), siendo este último el más estudiado. En este Simposio, a nivel de segundos mensajeros, veremos al IP<sub>3</sub> en el acoplamiento excitación-contracción y al DAG participando en la activación de la proteína quinasa C a través de tres mecanismos diferentes. A nivel de transducción estudios en las subunidades G<sub>s</sub> y G<sub>i</sub> de la proteína G del oocito de *X. laevis* y finalmente regulación de canales de calcio en células endocrinas por segundos mensajeros.

**FOSFOINOSITIDOS EN MUSCULO ESQUELETICO: PARTICIPACION EN EL ACOPLAMIENTO EXCITACION - CONTRACCION.** (Phosphoinositides in skeletal muscle: role in excitation - contraction coupling). Carrasco, M.A., Sánchez, X., Hidalgo, C. y Jalmovich, E. Depto. de Fisiología y Biofísica, Fac. de Medicina, Univ. de Chile, Santiago, Chile.

En analogía con otros sistemas celulares, el inositol trifosfato, IP<sub>3</sub>, ha sido propuesto como mensajero químico responsable del acoplamiento excitación-contracción en músculo esquelético. Brevemente, el modelo propone que, como consecuencia de la depolarización de la membrana de los túbulos transversales, se formaría IP<sub>3</sub> por hidrólisis de fosfatidilinositol 4,5 -bisfosfato (PIP<sub>2</sub>), liberándose al espacio triádico. El IP<sub>3</sub> alcanzaría por difusión la región de las cisternas terminales del retículo sarcoplasmático abriendo canales de calcio con lo cual aumenta la concentración de calcio intracelular. Finalmente, el IP<sub>3</sub> debe ser degradado por fosfatasas específicas.

En estudios realizados con células musculares y con membranas aisladas de músculo esquelético de anfibio, hemos determinado la presencia de maquinaria metabólica para la síntesis y degradación de PIP<sub>2</sub> y para el catabolismo de IP<sub>3</sub>. Estos resultados apoyan la hipótesis de IP<sub>3</sub> como mensajero químico del acoplamiento excitación-contracción en músculo esquelético.

Financiado por Fondecyt 896, NIH GM 35981 y Univ. de Chile DTI 2123.

**HOSEOLIPID SIGNALING SYSTEMS IN THE ACTION OF INSULIN.** Passo, R., Vila, M., Standaert, M., Ishizake, T., Hoffman, J., Cooper, D. Departments of Internal Medicine and Biochemistry, University of South Florida and J.A. Haley Veterans' Hospital, Tampa, Florida USA.

Insulin increases diacylglycerol (DAG) through hydrolysis of a phosphatidylinositol (PI)-glycon, de novo synthesis of phosphatidic acid (PA), and hydrolysis of phosphatidylcholine (PC). Insulin increases de novo PA synthesis apparently through activation of glycerol-3-phosphate acyltransferase by a low molecular weight insulin mediator derived from the PI-glycon through activation of a phospholipase C (PLC). Activation of this PLC appears to require a pertussis toxin-sensitive, G protein. Activation of another PLC, which hydrolyses PC, also occurs, and this effect of insulin is mimicked by phorbol esters and other agonists which activate protein kinase C (PKC). Presumably, DAG, derived from hydrolysis of the PI-glycon and/or de novo PA synthesis, may activate the PKC. Insulin-induced increases in DAG have now been shown to activate PKC in 3T3-L1 myocytes, rat adipocytes, and rat skeletal muscle preparations. This activation involves translocation of PKC from cytosol to membrane, as well as increased enzyme activity. Activation of PKC appears to play an important role in glucose transport since various agents which activate PKC also activate glucose transport, and since inhibitors of PKC inhibit the effects of insulin on glucose transport. Our findings suggest that insulin activates a PKC which hydrolyses a PI-glycon, leading to the subsequent activation of both de novo PA synthesis through PI-glycon-derived headgroup mediators, and PC hydrolysis through PKC-dependent activation of a PKC. DAG production is entered through all these mechanisms, leading to activation of PKC which appears to play an important role in the actions of insulin, most notably glucose transport.

**PROTEÍNS GEN LA TRANSDUCCION DE SEÑAL EN OOCITOS DE *X. laevis*** (G proteins in signal transduction of *Xenopus laevis* oocytes). Olate, J. y Allende, J.E. Departamento de Biología, Facultad de Medicina Universidad de Chile.

La señal originada en el exterior de la célula por la interacción de hormonas, neurotransmisores y factores de crecimiento con sus respectivos receptores es transducida hacia el interior de la célula por un grupo de proteínas de membrana, denominadas proteínas G. Estas proteínas son heterotéricas formadas por las subunidades,  $\alpha$ ,  $\beta$ , y  $\gamma$ , y su función es dependiente de GTP. Actualmente se han clonado 18 diferentes subunidades, 2 subunidades  $\alpha$  y 2 subunidades  $\beta$ . Estas proteínas están presentes en todos los eucariotes, desde levadura hasta mamíferos, indicando esto la importante función que ellas cumplen en la regulación celular.

En oocitos de *X. laevis* el proceso de maduración y fertilización son iniciados por la hormona progesterona y esperma, respectivamente. Antes señales extracelulares son transducidas hacia el interior del oocito por proteínas G. Estudios indirectos realizados en nuestro laboratorio han mostrado que estas proteínas G son del tipo G<sub>s</sub> y G<sub>i</sub>. Con el propósito de identificar estas proteínas G, hemos clonado los cDNA codificantes para 4 de estas proteínas. La secuencia de aminoácidos deducida indica que corresponden a los tipos G<sub>s</sub>-1a, G<sub>s</sub>, G<sub>i</sub>-1 y G<sub>i</sub>-3 descritas en mamíferos. Para iniciar el estudio de la función de estas proteínas, hemos clonado los cDNA en un sistema de expresión bacteriano y se ha analizado algunas propiedades de estas proteínas G recombinantes, como su ADP-ribosilación por la toxina de *Bordetella pertussis* y su interacción con las subunidades.

Paralelamente se han obtenido los respectivos mRNA y proteínas G en un sistema de transcripción y traducción in vitro con el objeto de expresar estas proteínas en el oocito utilizando la técnica de microinyección.

**CANALES DE CALCIO EN CELULAS ENDOCRINAS: REGULACION Y PAPEL, EN LA SECRECION POR EXOCITOSIS (A new class of calcium channels controlled by receptor activation and second messenger).** Rojas, E., Hidalgo, J., Carroll, P., Atwater, I., Gere, Stutzin, A. y Stojilkovic, S. Laboratorio de Biología Celular y Genética, Servicio Nacional de Salud, Bethesda, USA y Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Tres tipos de canales de  $Ca^{2+}$  sensibles al potencial de membrana (denominados L, T y N) controlan una fracción importante del  $Ca^{2+}$  que entra a la célula. Estudios en cultivos primarios de diferentes tejidos endocrinos han revelado la presencia de uno o más de estos tipos de canales en la membrana plasmática de las células secretoras. Nuestros resultados confirman que el canal de  $Ca^{2+}$  de tipo L, que no se inactiva al despolarizar la membrana y que es sensible a las dihidropiridinas, se encuentran en las células cromafines de la glándula adrenal, en células B del islote Langerhans y en células de la adeno-hipófisis (gonadotrofos). Además hemos establecido que tanto las células B como los gonadotrofos poseen el canal de  $Ca^{2+}$  de tipo T que presenta inactivación por despolarización de la membrana y que es insensible a las dihidropiridinas. Sabemos que la respuesta secretora en estos tres tipos celulares va siempre acompañada de un marcado aumento global del  $Ca^{2+}$  citosólico, ( $Ca^{2+}_i$ ). La contribución de cada uno de estos canales al aumento de  $Ca^{2+}_i$ , que es un pre-requisito en la fusión de las vesículas secretoras con la membrana plasmática, aún no ha sido establecida. Ciertamente existen algunos resultados paradójicos para cada uno de estos tres sistemas celulares que obligan a pensar en canales alternativos para la entrada de  $Ca^{2+}$ .

En nuestra búsqueda de tal mecanismo alternativo en células secretoras hemos descubierto un tipo de canales de  $Ca^{2+}$  (denominado G) con las siguientes propiedades comunes: i) corriente unitaria 1 pA (cell-attached) y ( $Ca^{2+}_i$ ) = 25 nM, ii) activación por agonistas de receptores específicos o por el metabolismo de la glucosa y, iii) relativamente insensible al potencial de membrana, a la concentración de  $Ca^{2+}$  (nM) en el lado citosólico y a los agentes convencionales que inhiben la activación de los canales L, T y N. Nuestros resultados indican que este tipo de canal juega un papel fundamental en la respuesta secretora de los tres tipos celulares.

## SIMPOSIO PROCESAMIENTO INTRACELULAR DE PROTEINAS

Coordinador: *Alfonso González*

**MUTACIONES QUE AFECTAN EL ENSAMBLAJE PEROXISOMAL (Mutations affecting peroxisomal assembly)** Santos, M.J. Dept. Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile.

Los peroxisomas son organelos celulares esenciales, cuyas proteínas son sintetizadas en ribosomas libres e importadas posttraduccionalmente al organelo, sin procesamiento proteolítico. Racióntemente, se han identificado señales de destinación en las proteínas peroxisomales en su extremo carboxílico. También se han identificado algunos elementos de la maquinaria de importación de estas proteínas, tales como proteínas de membrana y ATP.

Estamos caracterizando células que son portadoras de mutaciones que afectan múltiples funciones peroxisomales, como es el caso del Síndrome de Zellweger. Enfermedad genética humana, letal, en que no se detectan peroxisomas. Concordante con este hallazgo, las proteínas destinadas a la matriz peroxisomal se sintetizan en forma normal, pero permanecen en el citoplasma o son degradadas. En cambio las proteínas de la membrana peroxisomal son ensambladas en vacuolas aparentemente vacías ("fantasmas peroxisomales"). Esto sugiere que el defecto de esta afección reside a nivel de la maquinaria de importación de proteínas peroxisomales al interior del organelo.

Hemos evaluado la presencia de heterogeneidad genética en este síndrome. Mediante técnicas de genética de células somáticas detectamos la presencia de 5 grupos de complementación distintos en esta afección, lo que implicaría que al menos 5 genes participan en el ensamblaje normal de los peroxisomas.

**UN GLICOLIPIDO ACTUA COMO SENAL PARA LA SEGREGACION DE PROTEINAS APICALES (A glycolipid acts as a signal for the sorting of apical proteins).** Rodríguez-Boulan, E., Caras, I., Saltiel, A. and Lisanti, M. Departamento de Biología Celular y Anatomía, Cornell University Medical College, New York, NY; Genentech, California; Rockefeller University, NY.

Nuestro laboratorio está interesado en los mecanismos que determinan la polaridad de la célula epitelial. Previos estudios con virus encapsulados que geman en forma polarizada de la superficie de células epiteliales en cultivo han demostrado que proteínas apicales y basolaterales son segregadas en las cisternas distales del aparato de Golgi, e incorporadas en vesículas de transporte distintas que se fusionan con la cara celular correspondiente (para revisión, ver Rodríguez-Boulan y Nelson, Science, August 1989). Ciertos glicolípidos son segregados también en el Golgi y cotransportados en vesículas a la cara apical en forma preferencial (ibidem). Para tratar de entender la relación entre segregación de glicolípidos y proteínas apicales, hemos estudiado la polaridad de proteínas ancladas por la unión covalente con glicosilfosfatidilinositol (Proteínas-GPI) en la línea renal epitelial MDCK. Todas las proteínas-GPI (un total de 6) en MDCK están polarizadas en la cara apical (Lisanti y col., PNAS USA 85:9557, 1988). Otras líneas celulares epiteliales, LLC-PK1 (renal) y Caco2 (intestinal), también muestran una distribución apical de proteínas-GPI. Finalmente, transferencia de GPI a una proteína basolateral (la glicoproteína gD1 de Herpes) o a una proteína de secreción no polarizada (hormona de crecimiento), usando técnicas de ADN recombinante, resulta en la segregación apical de estas neoproteínas-GPI. (Financiado por grants de NIH, AHA, ACS y por el MDPhD program de la Universidad de Cornell)

**TOPOGRAFIA DE LAS MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES DE PROTEINAS EN EL LUMEN DEL RETICULO ENDOPLASMICO Y APARATO DE GOLGI.** (Topography of posttranslational modifications of proteins in the lumen of the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus). Hirschberg, C.B.<sup>\*</sup>, Abeijon, C.<sup>\*</sup>, Capasso, J.<sup>\*</sup>, Millia, M.<sup>\*</sup>, Clairmont, C.<sup>\*</sup>, Yanisawa, K., Y Robbins P.W., <sup>\*</sup>Depto. de Bioquímica, Escuela de Medicina, Univ. de Massachusetts, Worcester, MA, y Depto. de Biología, MIT, Cambridge, MA.

Estudios en nuestro laboratorio, usando enfoques bioquímicos, genéticos y de biología celular, han demostrado que la membrana del aparato de Golgi (AG) contiene transportadores específicos para nucleótidos azucar y PAPS. Recientemente hemos obtenido evidencia para un transportador de ATP en las membranas del AG y retículo endoplásmico (RE). Estos sustratos son transportados desde el citosol hacia el lumen de vesículas del AG y RE a través de un intercambio con el nucleótido monofosfato correspondiente. Se han preparado proteoliposomas que pueden transportar nucleótidos azucar específicamente. Este enfoque debe ser útil en la purificación y caracterización de las proteínas transportadoras. También hemos obtenido recientemente evidencia de un transportador de GDP-manosa en vesículas de tipo Golgi en levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Además, hemos descrito que la membrana del RE del hígado de rata contiene transportadores para UDP-N-acetil glucosamina y UDP-glucosa pero no para GDP-manosa. Esto sugiere que la síntesis de oligosacáridos unidos a doticol ocurre de manera asimétrica en la membrana de este organelo y que la topografía de glicosilación de macromoléculas es diferente en membranas de distintos organelos.

**SIMPOSIO: DESTINACION Y PROCESAMIENTO INTRACELULAR DE PROTEINAS** (Intracellular addressing and processing of proteins) Coordinador: Alfonso González de la Rosa. Pac. de Medicina. P. Univ. Católica de Chile.

Las proteínas, luego de su síntesis en el compartimento citosólico, son destinadas a sus distintos sitios de función en la célula o a rutas específicas para su secreción. Durante este proceso a menudo deben atravesar membranas, sufren modificaciones importantes en su estructura, y pueden ser sustrato de eventos de reconocimiento que las retienen en ciertos compartimentos o las dirigen hacia vesículas específicas de transporte. Estos aspectos se expondrán, junto con los modelos experimentales para su estudio, en relación al ingreso y recorrido de proteínas en la ruta exocítica y a la biogénesis de peroxisomas. Se analizará el aparato que transloca proteínas a través de las membranas del retículo endoplásmico (RE) y los elementos involucrados en la glicosilación de macromoléculas a nivel del RE y aparato de Golgi. El tráfico de proteínas entre el aparato de Golgi y la superficie celular será examinado en relación a las rutas alternativas de transporte y a las posibles señales de destinación que en distintas células epiteliales deben dar cuenta de la biogénesis de gránulos de secreción o de una superficie celular polarizada. Por otro lado, el análisis de la biogénesis de peroxisomas mostrará otros problemas propios de la segregación post-traduccional de proteínas a organelos limitados por membranas.

**COMPONENTES DE LAS VESICULAS DE SECRECION.** (Sorting of Secretory Vesicle Components). KELLY, R. Department of Biochemistry and Biophysics, University of California, San Francisco, CA 94143.

The formation of organelles requires the proteins be sorted correctly to their destinations. The soluble proteins inside endocrine secretory granules have sorting information that allows them to be selected and sorted at high concentration. Recently we have begun to examine the sorting of membrane proteins in secretory cells. We have shown that synaptic vesicle membrane proteins are expressed in endocrine cells and are selectively targeted to a structure with the properties of authentic synaptic vesicles. These synaptic vesicle-like structures arise by endocytosis. They are not present in non-neuronal cells, even when DNA encoding a synaptic vesicle protein is expressed in them. Sorting of synaptic vesicle proteins into synaptic vesicles promises to be a fruitful area of research since the vesicles are simple, easy to isolate and very well characterized.

## SIMPOSIO DIFERENCIACION CELULAR EN PLANTAS.

Coordinadora: Gloria Montenegro



Simposio: DIFERENCIACION CELULAR EN PLANTAS. (Differentiation in plant cells). Montenegro, G. Coordinador. Laboratorio de Botánica, Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La importancia del conocimiento de la biología celular y molecular en plantas es hoy día indiscutible debido a la creciente necesidad de seleccionar plantas resistentes a patógenos y a herbicidas; propagar plantas resistentes a la sequía con fines de reforestación en zonas áridas y otras que generen recursos vegetales con potencial económico ya sea industrial, medicinal o alimenticio.

Durante el desarrollo del simposio se analizarán los últimos avances en aspectos de la estructura molecular de la pared celular y el rol en el crecimiento y diferenciación de la célula; cambios ultraestructurales de células sometidas a la falta de gravedad (experimentos recientes realizados a bordo de la Nave Espacial Columbia) y respuestas morfológicas de plantas cultivadas in vitro correlacionadas con la manipulación de factores exógenos y de la totipotencialidad de la célula vegetal.

Proyecto FONDECYT 199/88

REGULACION DE RESPUESTAS MORFOGENICAS DE PLANTAS IN VITRO. (In vitro regulation of Plant Morphogenesis). Jordán, M. Laboratorio de Botánica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago.

Mecanismos conducentes a la regeneración de plantas *in vitro* a partir de células y tejidos, implican revertir inicialmente programas ontogénicos pre-determinados gatillándose posteriormente diversos procesos de diferenciación, organogénesis y embriogénesis. En el caso de una reembrionalización de células parenquimáticas, de microsporas, o de tejidos, las respuestas morfológicas en diferentes especies pueden ser gatilladas por la concentración y niveles entre varias fitohormonas utilizadas (androgénesis, embriogénesis somática, organogénesis caulinar y radicular), la especificidad de citoquinas (variación somaclonal), el tiempo de inducción por auxinas (rizogénesis) y la densidad celular junto con condicionantes en medios de cultivo para suspensiones celulares y fusión de protoplastos. Las respuestas morfológicas por factores endógenos dependen mayormente del tipo y condición del explante, de la edad del tejido u órgano, la evolución del metabolismo secundario, especialmente el grado de oxidación de compuestos fenólicos en plantas leñosas y, la situación de estabilidad metabólica y cromosomal en cultivos de larga permanencia *in vitro*. Se ilustran diferentes ejemplos de plantas estudiadas en nuestro laboratorio que responden específicamente ante las condiciones de cultivo indicadas.

Proyecto FONDECYT 0669/89, DIUC 85/86 y PNUD/ONUDI-RLA/83/003/PRB.

MIMICKING IN ULTRASTRUCTURAL EFFECTS OF MICROGRAVITY IN PLANT CELLS. Randy Moore and William Bowie, Department of Biological Sciences, Wright State University, Dayton, OH, USA and Krug International, Lyndon B. Johnson Space Center (NASA), Houston, TX, USA.

The objective of this research was to determine how effectively the actions of a classical clinostat and the Slow Turning Lateral Vessel (STLV) mimic ultrastructural effects of microgravity in plant cells. We accomplished the objective by comparing the ultrastructure of cells grown on clinostats and in the STLV with that of cells grown at 1g and in microgravity aboard the Space Shuttle Columbia. Cells of calli and intact seedling of corn and mustard spinach grown in microgravity and in the STLV contained significantly more lipid bodies, significantly less starch and fewer dictyosomes than comparable cells grown at 1g. Cells of seedlings grown on clinostats had significantly different ultrastructure than those grown in microgravity or in the STLV, indicating that Clinostats do not mimic microgravity at the cellular level. Calli and seedlings grown in the STLV had ultrastructure similar to those grown in microgravity, indicating that the STLV effectively mimics microgravity at the cellular level.

LAS PROTEINAS DE LA PARED CELULAR Y SU POSIBLE ROL EN EL CRECIMIENTO Y DIFERENCIACION DE LA CELULA VEGETAL. (The plant cell wall proteins and their possible role on the growth and differentiation of the plant cell).

Cardemil, L. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La pared celular de las células vegetales puede considerarse como una matriz extracelular constituida de polisacáridos neutros, ácidos, polímeros de resistencia, y de proteínas, entre las cuales la más conocida es la extensina. La extensina es una proteína básica rica en hidroxiprolina y glicosilada en los residuos de hidroxiprolina y serina con arabinosa y galactosa respectivamente. La pared celular regula el crecimiento en longitud de la célula vegetal y le da su forma durante la diferenciación celular. Además protege a la célula vegetal.

De todos los componentes de la pared, es la extensina la que más aumenta cuando la célula sufre heridas o algún daño mecánico. El aumento de extensina en la pared celular se correlaciona con una detención del crecimiento celular.

Las semillas y plántulas de *Araucaria araucana*, responden al estrés de heridas con un aumento de hasta 3 veces el nivel basal de proteínas de pared, en el caso del embrión y de 20 veces en el caso del megagametofito. Inmunoimpresión de los tejidos de semillas y plántulas, en papel de nitrocelulosa, usando anticuerpos policlonales obtenidos contra extensina de zanahoria o contra la extensina de cubiertas de semillas de soja, revela que la expresión de la proteína depende del tiempo de desarrollo y del tejido dañado.

Las proteínas de pared celular de semillas y plántulas de *A. araucana*, se han caracterizado por electroforesis en geles SDS poliacrilamida y catiónica y su composición aminoácida se ha determinado. (FONDECYT 0160; RIDMOPES542G-SS-8073-00).

**ROL DE POLISACARIDOS DE ALMACENAMIENTO EN PARED CELULAR DE SEMILLAS.** (The role of storage cell wall polysaccharides in seeds). Dietrich, S.M.C. Instituto de Botánica, Caixa Postal 4005-01051 São Paulo, S.P. Brasil.

Storage cell wall polysaccharides found in seeds are the galactomannans and xyloglucans. Both have been shown to be degraded after germination and the enzymes responsible for the complete hydrolysis have been studied in a few species.

Galactomannans are potentially important for the chemotaxonomy of Leguminosae since their yield and mannose: galactose (M:G) ratio vary within subfamilies and genera. A survey of galactomannan in seeds of tropical Leguminosae indicated that it occurs more frequently and in higher amounts in species of the subfamily Caesalpinioideae than in Mimosoideae and Faboideae. Galactomannans of Caesalpinioideae present higher M:G ratio. Considering the evolutive pattern accepted for the Leguminosae in which Mimosoideae derived from Caesalpinioideae with Faboideae being the more evolved subfamily, the data suggest that in the course of evolution there was a decrease in galactomannan content with an increase in the proportion of galactose in the molecules. Galactomannans are highly hygroscopic compounds and their degree of solubility is inversely proportional to the M:G ratio. One could then suggest that the increased branching (lower M:G ratio) of galactomannans in Faboideae may represent an evolutive adaptation providing an enhancement of cell water-potential with lesser amounts of the polysaccharide. No correlation was found between galactomannan and velocity of seed imbibition whereas seeds with high content and high M:G ratio imbibed more water per weight.

Perhaps the role of galactomannans in plant water-relations would be better envisaged in plants of arid zones such as the Brazilian "caatingas" and the deserts.

1. Aided by FAPESP and CNPq.

## SIMPOSIO MATRIZ EXTRACELULAR

Coordinador: *Enrique Brandan*

**SINTESIS, FUNCION Y REGULACION DE LA MATRIZ EXTRACELULAR.** (Synthesis, function and regulation of the extracellular matrix). Coordinador: Dr. Enrique Brandan, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

La matriz extracelular participa en un número de funciones celulares en las cuales destacan adhesión, migración, proliferación y regulación de la expresión génica. Varios componentes de la matriz extracelular han sido aislados destacando entre sus constituyentes, al colágeno, proteoglicanos y glicoproteínas no-colagenosas como fibronectina y laminina.

En este simposio, el Dr. A.R. Kornblihtt mostrará evidencia de la regulación del gen de fibronectina a través del cAMP y la participación de diferentes factores en su expresión. A continuación, el Dr. E. Brandan mostrará líneas experimentales en las cuales se evalúan la síntesis y el procesamiento de proteoglicanos de heparán sulfato, como el análisis de un modelo en el cual se estudia la regulación de la expresión de estos proteoglicanos. Luego, el Dr. J.J. Minguell nos mostrará cómo la interacción de elementos de la matriz extracelular con células troncales hematopoyéticas tiene una gran influencia en la diferenciación de éstas. Finalmente, el Dr. C.P. Dietrich presentará evidencia experimental que indica la importancia de las cadenas de glicosaminoglicanos presentes en los proteoglicanos de heparán sulfato, las cuales participarían en procesos de reconocimiento célula-célula y en el control del crecimiento celular.

**SULFATACION, ASOCIACION CELULAR Y EXPRESION DE PROTEOGLICANES** (Sulfation, cellular association and expression of Proteoglycans). E. Brandan, Facultad Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Los proteoglicanos (PGs) corresponden a un grupo de macromoléculas compuestas de una proteína central y cadenas de carbohidratos sulfatados, llamados glicosaminoglicanos (GAGs). Los PGs se encuentran asociados a la superficie celular por interacciones hidrofóbicas y/o hidrofílicas, o bien están presentes en la matriz extracelular interactuando con otros componentes. Diferentes funciones biológicas se han atribuido a los PGs de manera que es importante determinar los eventos moleculares involucrados en su síntesis como en la regulación de su expresión. Las reacciones de adición y sulfatación de los GAGs ocurre exclusivamente en el aparato de Golgi. La enzima responsable de la adición de grupos sulfatos a la glucosamina presente en los GAGs constituyentes de los PGs de heparán sulfato (PGHS), corresponde a una glicoproteína cuya actividad específica está enriquecida en 65.000 veces con respecto al homogeneizado. Los PGHS se encuentran asociados al aparato de Golgi a través de interacciones hidrofóbicas, mientras que en la membrana plasmática se encuentra además una forma hidrofílica de éste, existiendo una relación precursor-producto entre estas dos formas de PG. Como modelo para estudiar la regulación de la expresión de PGs hemos evaluado los niveles de síntesis en músculos esqueléticos de rata. Un aumento significativo en la síntesis de PGs, se observa a los pocos días de producir desnervación. Experimentos en los cuales se ha bloqueado la actividad muscular, sugieren que la influencia neural en la expresión de PGs musculares es a través de la actividad muscular.

REGULACION DE LA TRANSCRIPCION DEL GEN DE LA FIBRONECTINA POR AMPc EN CELULAS DE LA GRANULOSA DEL OVARIO. (Regulation of fibronectin gene transcription by cAMP in ovary granulosa cells) Bernath, V.A., Muro, A., Barañao, J.L. y Kornblihtt, A.R. INGENBI-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

La fibronectina (FN) es la proteína mejor caracterizada de la matriz extracelular. Un solo gen da origen a veinte polipéptidos diferentes por un complicado mecanismo de procesamiento alternativo del mRNA. Los fenómenos de adherencia y migración celulares relacionados con el desarrollo embrionario, la diferenciación y el cáncer dependen en gran parte de la interacción de la FN con su receptor celular (integrina).

La síntesis de FN es marcadamente inhibida por FSH, forskolina y AMPc, en una línea de células de la granulosa bovina establecida en nuestro laboratorio. Las gonadotropinas (FSH y LH) promueven la diferenciación de las células de la granulosa durante la maduración del folículo, activando la síntesis de estrógenos. El efecto del AMPc sobre la FN es máximo a las 48 hs y es consecuencia de una dramática reducción de los niveles de mRNA de FN, la cual depende de la síntesis de proteínas. El análisis in vitro de la interacción de factores de transcripción con la región promotora del gen de la FN revela que existen diferencias específicas de tejidos: mientras extractos de granulosa sólo tienen factores que reconocen los elementos proximales CRE (cyclic AMP recognition element) y SP1, extractos de hígado tienen factores que reconocen los elementos CRE, CAAT, SP1 y AP2. La demostración de interacciones proteína-proteína entre los factores que reconocen CRE y CAAT, así como el hallazgo de distintos tipos de interacción DNA-proteína entre el elemento CRE y su factor, nos permiten definir los mecanismos moleculares del rol inhibitorio del AMPc, comparándolos con los que median el ya bien documentado rol activador transcripcional del AMPc en otros genes de mamíferos.

HEMATOPOYESIS: ROL DE MATRIZ EXTRACELULAR. (Role of extracellular matrix components in hemopoiesis). Minguell, J.J. Unidad de Biología Celular. INTA. Universidad de Chile. Santiago, Chile.

La comprensión del proceso hematopoyético ha sido facilitada por la disponibilidad de sistemas de cultivo de médula ósea (long-term cultures) como asimismo de varias líneas celulares con características tanto de precursores hematopoyéticos como de fenotipos de estroma. La mediación de elementos de estroma en la regulación de la hematopoyesis ha sido ampliamente establecida, sin embargo, los mecanismos involucrados aún no están aclarados. Factores de crecimiento (FC) como Il-3, GM-CSF, G-CSF y  $\mu$ -CSF al igual que moléculas de matriz extracelular (ME) como glicoproteínas, proteoglicanos (PG) y colágeno claramente tienen un rol en la hematopoyesis.

Líneas celulares hematopoyéticas equivalentes a progenitores del tipo CFU-G/M sintetizan y exponen PG de condroitin sulfato asociados a la membrana. Estas moléculas permiten la adhesión del progenitor, vía fibronectina, a células de estroma. El recambio o procesamiento de PG parece ser instrumental para el ulterior inicio de procesos de proliferación y diferenciación de la célula troncal. En estos eventos, otros compuestos de ME (glicoproteínas y proteoglicanos) unen FC (Il-3 y GM-CSF) y los "presentan" a receptores de la célula progenitora. De este modo la adecuada organización en el espacio y en el tiempo de células de estroma y sus productos, ME y FC, genera microambientes en los cuales la célula troncal hematopoyética se aloja, se autoreplica y se diferencia a los diferentes linajes hematopoyéticos.

HEPARAN SULFATOS: ESTRUCTURA, BIOSINTESIS Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA. (Heparan sulfates: Structure, Biosynthesis and Biological activity). Dietrich, C.P., Nader, H.B., Moraes, C.T., Oliveira, F.W., Jerônimo, S.M.B., Ferreira, I.M.P.C. and Chavante, S. Departamento de Bioquímica, Escola Paulista de Medicina, São Paulo, S.P. Brasil.

We have previously shown that heparan sulfates are ubiquitous components of membranes and extracellular matrices of cells in culture and vertebrate and invertebrate tissues and also exhibit a peculiar structural variability. Heparan sulfate is composed of four disaccharide units made of glucosamine and glucuronic acid. The glucosamine is either N-acetylated or N-sulfated and also may contain a sulfate at the C-6 position of the hexosamine moiety. The proportion of these four units as well as the molecular weight of these compounds vary according to the tissue and species of origin. Each tissue contains a specific heparan sulfate which is synthesized in the embryonic development during the citodifferentiation stage and whose proportion of the four disaccharide units remains unchanged until the complete development of the species. Inhibition of the synthesis of heparan sulfate by selenate arrests growth of endothelial cells in culture and inhibits molting of the insect *Rhodnius prolixus*. Although in small amounts, the heparan sulfate synthesized in the presence of selenate, has the same structure of the one synthesized by control cells. This implies that the sulfation is a necessary step for chain polymerization. All the results obtained so far suggests that heparan sulfates are involved in cell-cell recognition processes (independent from fibronectin and laminin) and in the control of cell growth.

(Aided by grants from FINEP, CNPq and FAPESP, Brasil)

## SIMPOSIO ORGANIZACION FUNCIONAL DEL NUCLEO

Coordinador: Raúl Fernández

**SIMPOSIO ORGANIZACION FUNCIONAL DEL NUCLEO** (Functional organization of the Nucleus). **Fernández-Donoso R.**, Depto. de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Estudios paleontológicos y de evidencias fósiles sugieren que los eucariontes emergieron hace unos 1.500 millones de años, probablemente a partir de bacterias desprovistas de pared celular y que habrían desarrollado un citoesqueleto rudimentario. Desde esta fase inicial de la evolución del núcleo hasta alcanzar la complejidad del sistema nuclear de los animales y plantas superiores, debió irse produciendo gradualmente: 1. la aparición de la envoltura nuclear probablemente a partir de la membrana plasmática bacteriana 2. el desarrollo de un nucleoesqueleto proteico y de un sistema de señales de intercambio núcleo citoplasmático 3. la aparición de la mitosis y de cromosomas lineales provistos de centrómero, telómeros, nucleosomas y repeticiones múltiples y 4. la aparición de la meiosis y del complejo sinaptonémico.

Hace tal vez unos 900 millones de años, la arquitectura y organización supramolecular del núcleo habría alcanzado características semejantes a las actuales. Desde un punto de vista histórico, se puede considerar al núcleo como un compartimento celular que ha venido conservando y transmitiendo fielmente la información genética a través de generaciones celulares y de organismos. Paradojalmente, el mismo sistema nuclear ha garantizado la variabilidad individual y la diversidad evolutiva en las poblaciones naturales y especies.

Teniendo en cuenta el contexto reseñado, en este Simposio analizaremos la estructura y funcionalidad de la envoltura nuclear y de los complejos de poro. Trascendiendo el nivel puramente celular, estudiaremos las consecuencias de las interacciones RNA-proteínas nucleares en el apareamiento, recombinación y segregación cromosómicas, así como su participación en la génesis de asociaciones reiteradas entre bivalentes meióticos. Finalmente, analizaremos la evolución de determinados segmentos del RNA que están involucrados en el origen y propagación de la heterocromatina.

**ORGANIZACION FUNCIONAL DEL NUCLEOLO** (Functional organization of the nucleolus). **Benavente R.**, Institute of Zoology 1, University of Würzburg, 8700 Würzburg, FRG.

El microscopio electrónico permite identificar tres componentes en el nucleolo: a) los centros fibrilares, b) el componente fibrilar denso y c) el componente granular. Estudios previos, basados en técnicas de autoradiografía, sugieren que la transcripción del RNA ribosomal (rRNA) tiene lugar en el componente fibrilar denso, mientras que en el componente granular tendría lugar el procesamiento y empaquetado de las partículas preribosomales. Sin embargo, estudios posteriores con técnicas inmunocitoquímicas han permitido localizar a la RNA polimerasa I (la enzima responsable de la transcripción del rRNA), exclusivamente, en los centros fibrilares, sugiriendo que la transcripción tiene lugar en dicho componente (1). Recientemente, hemos iniciado una serie de experimentos cuyo objetivo es el estudio del rol funcional de los componentes nucleolares, utilizando técnicas de microinyección de anticuerpos (2). Mediante esta técnica es posible interferir, selectivamente, en la función de una proteína nucleolar por vez. Las alteraciones en la organización funcional del nucleolo, inducidas mediante este procedimiento, pueden ser evidenciadas con la ayuda de técnicas inmunocitoquímicas, autoradiográficas y de microscopía electrónica. Se presentarán los resultados de estos estudios, los que serán discutidos a la luz de los conceptos corrientes sobre la estructura y función nucleolar.

(1) Scheer U & Rose KH: *PNAS* 81, 1431 (1984).

(2) Benavente R et al: *J Cell Biol* 105, 1483 (1987);  
*Chromosoma* 97, 115 (1988);  
*Exp Cell Res* 178, 518 (1988).

**LAS PROBABILIDADES DE ASOCIACION DE LOS BIVALENTES NUCLEOLARES EN EL ESPERMATOCITO HUMANO** (Probabilities of association between nucleolar bivalents in human spermatocytes). **Fernández-Donoso R.**, Depto. de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se ha postulado que durante la profase de la meiosis las asociaciones entre los bivalentes nucleolares no ocurren al azar y que se producen debido a la atracción de la heterocromatina presente en sus brazos cortos y/o por la formación de nucleolos comunes entre dos o más bivalentes. Con el propósito de dilucidar las restricciones que al simple azar debería imponer la particular arquitectura del núcleo del meiocito, se realizó un estudio probabilístico que consideró las interacciones entre los telómeros de los bivalentes con el área total AT y con áreas restringidas AB de la envoltura nuclear. Las probabilidades se calcularon a través de una derivación de la fórmula de Feller para la distribución de partículas homogéneas en espacios discretos. Las probabilidades esperadas ESP-AT y ESP-AB para cada clase de espermatocito según la combinatoria de asociaciones SPTR, fueron las siguientes:

	ESP-AT	ESP-AB
5000000	0,00	0,04
4100000	0,00	1,24
3200000	0,00	2,50
3110000	0,12	12,50
2210000	0,18	18,74
2111000	10,60	49,99
1111100	89,10	14,99

Se compararon ESP-AT y ESP-AB con las frecuencias de asociaciones en reconstrucciones 3-B de series ópticas de 60 espermatocitos en paquitenio. Se encontró que los valores de ESP-AB se ajustan a las frecuencias observadas. Estos resultados sugieren que las asociaciones entre bivalentes nucleolares podrían ocurrir al azar en un ámbito restringido del núcleo, el cual correspondería al espacio en el que se organiza el bouquet.

Proyecto Fondecyt 1194 y Proyecto D.T.I. B2686.

**MECANISMOS DE APAREAMIENTO Y RECOMBINACION EN LOS CROMOSOMAS SEXUALES.** (Mechanisms of pairing and recombination in sex chromosomes). **Solarí, A. J.** Centro de Investigaciones en Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

Los cromosomas sexuales heteromórficos han surgido repetidamente en grupos zoológicos en los que una estabilidad adicional del sexo genotípico es ventajosa. Hay un patrón general en la conducta meiótica de los cromosomas sexuales heteromórficos, ya sea de machos XY en mamíferos como de hembras ZW de aves. En los pares XY de mamíferos hay regularmente una sinapsis parcial demostrable por el complejo sinaptonémico (Solarí, 1974). Además existe un nódulo de recombinación (NR) localizado cerca de los extremos apareados (Solarí, 1987). La región pseudoautosómica definida por sondas de ADN se equivale a la mitad distal de la región sináptica del par XY humano (en promedio 0,4  $\mu$ m), aproximadamente 50% del brazo corto del Y humano, o 5 Mb de ADN. En la gallina hay regularmente sinapsis parcial entre el Z y el W, con la formación de un NR localizado a 0,65  $\mu$ m del extremo. La localización del NR no depende de la integridad del cromosoma Z, quedando localizado en igual posición en las traslocaciones Z-autosoma (Solarí et al., 1988). Por consiguiente, el patrón general meiótico de los pares heteromórficos comprende la sinapsis regular, con zonas homólogas y no homólogas, más la presencia de señales (región "caliente") para una recombinación localizada. Las conductas excepcionales de los pares XY de marsupiales y de *PSALMODROMYS* sugieren la presencia de patrones secundarios alternativos. La heteropicnosis propia del par XY de los mamíferos podría ser regulada separadamente y está relacionada con la viabilidad del meiocito en las hembras excepcionales de *Akodon azarae*. (Apoyado por CONICET y F. Antorchas).

LA VARIACION DEL DNA ALTAMENTE REPETIDO A NIVEL INTRA E INTERESPECIFICO. (Inter- and intra-specific variation of the highly repeated DNA). Bianchi, N.Q. IMBICE, C.C. 403, 1900 La Plata, Argentina.

La heterocromatina está formada por secuencias cortas de ADN, altamente o moderadamente repetidas, y agrupadas en áreas restringidas de los cromosomas. En el ADN repetido que forma la heterocromatina existen sitios de reconocimiento para enzimas de restricción. Por tal motivo, cuando se digieren los cromosomas con enzimas de restricción del tipo de las denominadas "cortadoras frecuentes" se produce una extracción del ADN cromosómico, y se induce un bandedo que permite cuantificar la frecuencia aproximada de los sitios de restricción. Este método se empleó para evaluar la frecuencia de sitios de reconocimiento *AluI*, *HaeIII*, *HinfI*, *MboI*, *DdeI* y *RsaI* en la heterocromatina de individuos pertenecientes a especies filogenéticamente cercanas, y en individuos pertenecientes a una misma especie. Los resultados obtenidos muestran una marcada variabilidad en la frecuencia de los sitios de reconocimiento de las endonucleasas antes mencionadas a nivel interespecífico, interindividual y también en los cromosomas de un mismo individuo. Estos hallazgos permiten realizar inferencias acerca del mecanismo de origen de la heterocromatina y acerca de su nivel mutacional.

LA ENVOLTURA NUCLEAR. ESTRUCTURA Y FUNCIONAMIENTO DE LOS COMPLEJOS DE PORO. (The Nuclear Envelope. Structure and Function of Pore Complexes). Barros, M. Department of Pharmacological Sciences, School of Medicine, State University of New York at Stony Brook, Stony Brook, New York 11794-8651, U.S.A.

Complejos de poro son estructuras supramacromoleculares que forman canales entre el núcleo y el citoplasma de células eucarióticas. Varias publicaciones indican que estos organelos están implicados en la regulación del tráfico de macromoléculas a través de la envoltura nuclear. Estructuralmente, cada complejo de poro tiene dos anillos paralelos compuestos de ocho subunidades anulares. Uno de ellos está expuesto al nucleoplasma y el otro al citoplasma. Interpuesta entre estos dos anillos hay una estructura cilíndrica que define el canal del complejo de poro. Estudios de microinyección celular sugieren que este canal tiene un diámetro máximo de difusión pasiva de alrededor de 9 nm. Sin embargo, poros nucleares pueden transportar macromoléculas substancialmente más grandes; el importe de proteínas más grandes que 70 kD es aparentemente específico y requiere energía. Varios polipéptidos han sido localizados en el complejo de poro. Entre estos hay glicoproteínas, algunas de las cuales contienen una nueva variedad de enlace glicosídico. La localización histológica de una actividad ATPásica aparentemente asociada con el poro nuclear, así como la evidencia reciente en cuanto a requisitos energéticos para el importe de proteínas específicas *in vitro* han resultado en un considerable interés en caracterizar las ATPasas asociadas con el complejo de poro. Nosotros hemos comunicado previamente la identificación de un polipéptido de alta masa molecular con actividad ATPásica asociado con fracciones enriquecidas en envolturas nucleares. Este polipéptido está relacionado con la cadena pesada de miosina y ha sido localizado *in situ* en poros nucleares usando anticuerpos conjugados con oro coloidal y microscopía electrónica de transmisión. Basándonos en estas observaciones, hemos propuesto un modelo en el cual las moléculas de miosina serían componentes de los complejos de poro. Observaciones preliminares usando anticuerpos conjugados con oro coloidal indican que las cadenas livianas de miosina también están asociadas con los complejos de poro. Esta reciente observación da apoyo adicional a la noción que moléculas de miosina son componentes tanto estructurales como funcionales en poros nucleares.

## SIMPOSIO INTERACCIONES GAMETICAS

Coordinador: *Claudio Barros*

INTERACCIONES GAMETICAS EN ANIMALES (Gamete interactions in animals) Barros, C. Laboratorio de Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Se puede considerar que la fecundación es el punto límite entre la vida y la muerte. Si el ovocito es fecundado este se activa y se inicia el desarrollo que lleva a la formación de un nuevo individuo. En tanto que si no es fecundado este degenera y muere. En esta interacción la superficie de los gametos es de primordial importancia para establecer su reconocimiento y posterior formación del cigoto. Las presentaciones de los Drs. Esponda y Cabada abordarán esta problemática asociada a las glicoproteínas de superficie del espermatozoide y de las cubiertas vitelinas. En la mayor parte de las especies el espermatozoide debe experimentar la reacción del acrosoma como un prerequisite para atravesar las cubiertas ovocitarias durante la fecundación aspecto que será discutido en los anfibios por el Dr. Cabada. La Dra. Quasnicu discutirá el mecanismo de inducción de la reacción del acrosoma en mamíferos, y la participación del ambiente oviductal en la fase final de la capacitación y proveer así un mecanismo autónomo para la reacción acrosómica. El éxito de la fecundación requiere de la internalización del núcleo del espermatozoide así como de movimientos de los pronúcleos al centro del huevo los que son mediados por elementos del citoesqueleto, aspectos que serán discutidos por el Dr. Schatten. Finalmente los conocimientos adquiridos con el estudio de la fecundación se ha traducido en su aplicación a la reproducción humana a través de la fecundación extracorpórea planteando importantes interrogantes las que serán discutidas por el Dr. Austin, codescubridor del fenómeno de la capacitación espermática y por decir así "padre de la fecundación *in vitro*".

Simposium "GAMETE INTERACTIONS IN ANIMALS"

THE SIGNIFICANCE OF FERTILIZATION. Austin, C.R. 47 Dixon Road, Buderim, Q. 4556, Australia.

The fertilization of a human egg, often thought of as initiating the life of a person, is in reality but the beginning of a beginning for one or more individuals. While pronuclear fusion establishes a diploid genome, this is at first a structural entity without function. No significant RNA synthesis occurs between germinal vesicle breakdown and early cleavage, and in fact embryonic genes do not begin to find expression until about the 4- to 8-cell stage. Gene expression then progressively spreads throughout the genome, during prenatal development and beyond. The progressive nature is well shown in the early mouse embryo by the widening range of energy sources utilizable, by the rising levels of glycogen storage and by the increasing uptake of nucleic acids and protein precursors. While HCG- $\beta$  RNA is transcribed in human embryos about 2 days after fertilization, it is not expressed until the 6- to 8-cell stage. Cleavage in the human embryo up to the 16-cell stage is not linked to physical or functional integration, each cell being inherently capable of giving rise to an entire person (together with a complex of placental structures); alternatively, cells from separate embryos on being brought together can jointly lead to the establishment of a chimeric individual. Multiplicity can also originate later, the primitive streak stage being the normal time for monozygotic twinning. Only when that stage has passed does true individuality exist, for (excluding anomalies) just one person can now eventuate. The gene-transfer function of fertilization can be replaced or augmented by intranuclear or intra-blastocyst gene injection, or by the use of teratocarcinoma or embryo-stem cells.

Egg-mediated motility during fertilization. Schatten, G., Wright, S., Holy, J., Thompson-Coffe, C., Simerly, C., and Schatten, H. IHR, Univ. of Wisconsin, U.S.A.

The successful consummation of fertilization requires motility effected by the oocyte cytoskeleton. The required movements include the translocation of the sperm from the oocyte's surface into the cytoplasm as well as the migrations of the pronuclei leading to their apposition at the oocyte center. By the use of microinjected derivatized-tubulin (biotinylated-tubulin and Xrhodamine-tubulin), questions will be posed about the dynamics of microtubules at mammalian fertilization. Since the unfertilized oocyte is arrested at metaphase, questions will be posed as to whether the microtubules in this quiescent cell are inactive or dynamic. Since other cell types separate various classes of microtubules by post-translational modifications of  $\alpha$ -tubulin, the spatial and temporal patterns of microtubule acetylation and detyrosination during mouse fertilization will be described. Microtubules are nucleated *in vivo* by the centrosome, the cell's microtubule organizing center (MTOC). The behavior of this structure during fertilization is unlike that predicted from studies in lower systems and has raised the hypothesis that the centrosome is maternally inherited in mammals, in contrast to the paternal pattern found in most all other animals. *In vitro* evidence suggests that the kinetochore actively translocates the chromosomes into alignment at the metaphase plate during prometaphase (congression), and also is responsible for the separation of the chromosomes at anaphase (anaphase A). Since the mammalian oocyte is arrested at metaphase, the activity of the kinetochore can be explored with unrivaled synchrony by microinjection of antibodies specific for kinetochore proteins. These studies reinforce the importance of studying mammalian fertilization in order to generate a full appreciation of the cellular and molecular basis of reproduction in mammals.

GLICOPROTEINAS DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA EN ESPERMATOZOIDES ANIMALES. (Plasma membrane glycoproteins in animal spermatozoa). Esponda, P., Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC. Velázquez, 144. 28006-Madrid, España.

Una serie de experimentos han demostrado que ciertas glicoproteínas (GP) presentes en la membrana del espermatozoide de mamíferos participan en fenómenos que ocurren antes y durante la fecundación. En la mayoría de estos estudios las GP se han analizado cualitativamente; pero últimamente se han desarrollado métodos, mediante ensayos en fase sólida, que han permitido la obtención de datos cuantitativos respecto a los cambios que ocurren en el espermatozoide durante su paso por los tractos genitales. Sin embargo, el análisis comparativo revela que probablemente existen GP que poseen otras funciones aún no dilucidadas. En mamíferos, aves, reptiles y peces eslamobramquios, la membrana que tapiza el área acrosomal es la zona más rica en GP con carbohidratos terminales del tipo  $\alpha$ -D-Manosa,  $\alpha$ -L-Fucosa y ácido neuramínico; este hecho es llamativo en marsupiales donde el acrosoma presenta una ubicación lateral, y también en algunos invertebrados independientemente de la forma y tamaño del acrosoma. Los peces teleosteos configuran un caso especial dado que el acrosoma está ausente y varias GP son abundantes en toda la superficie de la cabeza del gameto. Cuando se analizan estos datos en relación con los mecanismos de fecundación y con los fenómenos que ocurren en el espermatozoide durante su paso por los tractos genitales, se esboza la idea de que algunas de estas GP podrían actuar como protectoras del acrosoma.

MECHANISM OF MAMMALIAN ACROSOME REACTION INDUCTION WITH ESPECIAL REFERENCE TO THE PROCESS OF SPERM CAPACITATION. Cuasnicu, P.S. and Bedford, J.M., Cornell University, New York, USA.

Spermatozoa of all eutherian mammals studied up to date must undergo a process of capacitation in the female tract before they become capable of fertilizing an egg. This functional change allows the spermatozoa to undergo the acrosome reaction (AR) which enables it to fuse with the oolema. It has long been known that a component in the egg coat may stimulate the AR in invertebrates. The probability exists however, that this may not be so for eutherian mammals. This question which is central to a better understanding of the mechanisms of mammalian fertilization is nonetheless controversial. Some investigators have concluded that it is the interaction with the zona pellucida (ZP) that specifically induces the AR, while others have observed that the reaction occurs before the zona is reached. Recent experiments in which zona free hamster eggs were transferred into the tubal ampulla of previously inseminated females, demonstrate that a functional AR *in vivo* require no interaction with the ZP nor with other products of ovulation (Cuasnicu and Bedford, 1988) adding weight to the possibility that capacitation may provide a means of autonomous regulation of the AR. Since completion of capacitation may limit the fertile life of sperm thereafter, it seems logical that sperm become fully capacitated near the site of fertilization. In this regard, experiments in which the capacitation potential of the uterus and lower (isthmus) and upper (ampulla) region of the oviduct was explored suggest that the ampullary environment might provide the final element that completes capacitation (Cuasnicu and Bedford, submitted). Such an arrangement would be clearly beneficial for the phase of sperm storage that takes place in the isthmus, particularly in species where the interval between insemination and ovulation is often prolonged.

FECUNDACION EN ANFIBIOS. (Amphibian fertilization).

Cabada, M.O. Area Biología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, R. Argentina.

En el acrosoma de los espermatozoides de algunos Anfibios Anuros se han encontrado enzimas tales como proteasas y glicosidasas. Las mismas son activas frente a las cubiertas vitelinas (CV) y al cortex de los ovocitos, los que al ser puestos en presencia de un crudo enzimático evidencian en primer lugar un "arrugamiento" del hemisferio animal, observándose luego paulatinos desprendimientos de trozos de CV, llegando hasta la desaparición de la misma. En la membrana plasmática subyacente se observa una disminución en el número y tamaño de las microvellosidades. En el correspondiente hemisferio vegetativo no se observan estas modificaciones. El pasaje de los espermatozoides a través de la CV está mediado por la actividad de estas enzimas y por la presencia de algunos restos glicosídicos en la CV: la incubación de ovocitos con lectinas (concanavalina A, fitohemoaglutinina, de germen de trigo, etc.), determina la no fecundación de los mismos. Por otra parte, la incubación de los espermatozoides con las glicoproteínas que difunden de las CV aisladas, inhiben la capacidad fecundante de los mismos. En este último caso es la fracción glicósida la responsable de la actividad biológica. La activación de los ovocitos impide la poliespermia mediante un mecanismo que implica, en parte, la modificación de la sensibilidad de la CV a las enzimas acrosomales. Ello es debido a la interacción de la CV con el producto que eliminan los gránulos corticales de los ovocitos durante la activación.

## SIMPOSIO METABOLISMO CELULAR DE ACIDOS GRASOS Y COLESTEROL

Coordinador: *Federico Leighton*IDENTIFICACION DE ACETATO LIBRE COMO EL PRODUCTO DEL ACETIL-CoA GENERADO POR LA  $\beta$ -OXIDACION PEROXISOMAL EN HEPATOCITOS.

F. Leighton (\*) y S. Bergseth (+) (\*) Dep. de Biol. Celular, U. Católica de Chile e (+) Instituto de Bioquímica Médica, U. de Oslo.

Se ha propuesto que el acetil CoA generado en peroxisomas sale del organelo como acetil-carnitina para luego entrar a la mitocondria e incorporarse al "pool" de acetato. Este acetato, en condiciones cetogénicas, sería precursor de cuerpos cetónicos. Para evaluar esta proposición, estudiamos la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos y de ácidos dicarboxílicos en hepatocitos de ratas, con o sin proliferación peroxisomal. La oxidación peroxisomal se detectó como producción de  $H_2O_2$  y la oxidación mitocondrial, como producción de cuerpos cetónicos. Encontramos que no se producen cantidades significativas de acetil-carnitina y que ésta tampoco es un precursor cetogénico al agregarla exógenamente. Los ácidos dicarboxílicos son sustratos peroxisomales (J. Biol. Chem. 264:10347, 1989) y no son cetogénicos. La búsqueda de productos alternativos a la acetil-carnitina nos llevó a identificar al acetato libre como el producto principal derivado del acetil-CoA generado en peroxisomas. Para esto realizamos observaciones empleando diferentes sustratos y aislamos productos radiactivos de sustratos marcados. Nuestra conclusión es que bajo condiciones de oxidación de ácidos grasos, la  $\beta$ -oxidación mitocondrial lleva a cetogénesis, y la  $\beta$ -oxidación peroxisomal a acetogénesis. Este hallazgo puede permitirnos detectar y medir la  $\beta$ -oxidación peroxisomal en animal entero. (UNDP CHI/88/017 ; FONDECYT 250/88)

## METABOLISM ANAD METABOLIC EFFECTS OF HYPOLIPEMIC LONG CHAIN ALKYLTHIOACETIC ACIDS (3 THIA FATTY ACIDS). Jon Bremer and Rolf K. Berge, Institute of Medical Biochemistry, University of Oslo, Norway.

Tetradecylthioacetic acid lowers blood cholesterol and blood triacylglycerol when fed to rats (about 50% with a dose of 150 mg x Kg body weight<sup>-1</sup> x day<sup>-1</sup>). A series of fatty acid metabolizing enzymes are induced in the liver, such as acyl-CoA synthetase, peroxisomal  $\beta$ -oxidation, fatty acid  $\omega$ -hydroxylation, acyl-CoA hydrolase(s), carnitine palmitoyltransferase II. The 3-thia fatty acids are non- $\beta$ -oxidizable, but they are metabolized by  $\omega$ -hydroxylation followed by peroxisomal  $\beta$ -oxidation from the  $\omega$ -end. Thus, they induce their own oxidation. The sulfur atom is oxidized to sulfoxide. The main metabolites found in the urine are carboxypropylsulfoxyacetic acid and the symmetric thiodiglycolic acid sulfoxide. In isolated hepatocytes the long chain 3-thia fatty acid analogues are strong inhibitors of fatty acid synthesis from acetate. Cholesterol synthesis is also inhibited. Stearate desaturation ( $\Delta$  9 desaturase) is unaffected and stearate oxidation even is stimulated. The 3-thia fatty acids are incorporated into phospholipids and triacylglycerol to a similar extent as palmitate. The 3-thia fatty acids may be useful tools in studies on the regulation of fatty acid metabolism.

## EFECTO DEL COLESTEROL SOBRE LA COMPOSICION MICROSOMAL HEPATICA Y SUS PROPIEDADES BIOFISICAS Y ENZIMATICAS R.E. Brenner, Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata, Fac. de Cs. Médicas, 60 y 120, (1900) La Plata, Argentina.

El colesterol es un importante constituyente de las membranas. En los microsomas el contenido de colesterol es modificado por la dieta. Se estudió en cobayos el efecto del colesterol sobre las propiedades físicas de la membrana y el comportamiento cinético de la UDP-glucuronil transferasa *in vivo* o *in vitro*. El colesterol a temperatura ambiente rigidiza los lípidos generales de la membrana microsomal y modifica la cinética de la UDP-glucuronil transferasa. Disminuye los 4 Kms, aumenta la Vmax y el coeficiente de Hill llevando la reacción de no miceliana a miceliana. Son cambios reversibles, producidos aparentemente por modificación del estado físico de los lípidos del entorno de la enzima. Mientras el colesterol dietario no modifica durante 21 días la composición de los ácidos grasos de los microsomas hepáticos en el cobayo, los altera en la rata aumentando las relaciones 16:1/18:0 y disminuyendo la 20:4/18:2. Dichas alteraciones son consecuencia de los aumentos de la  $\Delta$  9 desaturasa y disminución de la  $\Delta$  6 y  $\Delta$  5 desaturasa. Estos resultados *in vivo* son antagónicos a los obtenidos *in vitro* para las  $\Delta$  6 y  $\Delta$  5 desaturasa y parecen ser debidos a un aumento de la fosfatidilcolina *in vivo*. Habría también un efecto viscosotrópico sobre la  $\Delta$  9 desaturasa. La administración de  $\beta$ -sitosterol (60%) y campesterol (40%) a la rata incorpora ambos esteroides en los microsomas pero no aumenta la fosfatidilcolina. Se produce disminución de fluides y aumento de las tres  $\Delta$  9,  $\Delta$  6 y  $\Delta$  5 desaturasa, indicando una regulación viscosotrópica.

## SECRECION BILIAR DE LIPIDOS DESDE EL HEPATOCITO (HEPATIC SECRETION OF BILIARY LIPIDS). M.P. Marsolo, A. Rigotti, L. Amigo y F. Nervi. Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Universidad Católica de Chile.

Una cantidad significativa de colesterol biliar es transportado en vesículas bilamellares de fosfolípidos, tanto en bilis sobresaturadas (humanas) como insaturadas (ratas). Los aspectos fundamentales de la secreción biliar de lípidos tienen que ver con los determinantes cuantitativos de la secreción hepatocitaria de colesterol a la bilis y a la biología celular de este proceso.

Existen evidencias que tanto los lípidos de VLDL como los lípidos biliares se originan del retículo endoplásmico. En esta serie de experimentos en el hígado aislado estudiamos la interrelación funcional entre las tres vías de excreción hepatocitaria de colesterol incorporado a: VLDL, vesículas bilamellares y neosíntesis de ácidos biliares. Se estimuló cada una de estas vías con manipulaciones dietéticas: 30% fructosa (aumenta producción de VLDL); 5% colestipol (aumenta la síntesis de ácidos biliares); 1% diosgenina (aumenta la secreción biliar de colesterol).

Estos estudios demuestran una relación recíproca entre la secreción biliar de col y secreción sinusoidal de col en VLDL. La estimulación de la síntesis de sales biliares no modifica la secreción de colesterol hepático a la bilis y el sinusoide. Los resultados son consistentes con la hipótesis de que la compartimentalización metabólica del colesterol hepático es un factor fundamental que determina la cantidad de colesterol incorporado en vesículas fosfolípidicas que será transportado a la bilis.

**APOLIPOPROTEIN B. A SECRETED INTEGRAL MEMBRANE PROTEIN IS INEFFECTUALLY TRANSLOCATED ACROSS THE ENDOPLASMIC RETICULUM.** Roger A. Davis, Christine Wu and Kathryn E. Howell, University of Colorado Medical School, Denver, Colorado, USA.

Previously, we found that unlike albumin which is quantitatively secreted, only a fraction of de novo synthesized apo B is secreted, the remainder is retained in the endoplasmic reticulum, where it is degraded. To understand the basis for these observations, we examined the first step in the secretory pathway: translocation. In isolated microsomes secretory proteins, once translocated are resistant to exogenous proteases, whereas non-translocated proteins are exposed on the cytoplasmic surface and are protease sensitive. Translocation of apo B was compared to albumin by determining their relative sensitivity to degradation by trypsin in hepatic microsomes. Rough, smooth and Golgi sub-fractions were incubated with trypsin, the reaction was inhibited and the trypsin was removed. The relative amount of apo B and albumin was estimated by Western blotting using specific antibodies. In the rough microsomal fractions, trypsin reduced the amount of both small and large molecular weight apo B, whereas no detectable degradation of albumin was observed. In contrast, incubating smooth and Golgi fractions with trypsin resulted in little (if any) degradation of either protein. Since the microsomes remained intact and were orientated right side out as demonstrated by the inability of trypsin to both degrade albumin and to effect the latency of the intraluminal enzyme mannose-6-phosphatase, the selective degradation of apo B suggests a pool of it is exposed on the cytoplasmic surface. If this interpretation is correct, the trypsin accessible pool of apo B should be exclusively membrane associated. Rough microsomes were separated into membrane and intracisternal content fractions by ultracentrifugation following incubation with sodium carbonate. Essentially all of the apo B that was degraded was membrane bound. To determine if the trypsin accessible pool of apo B is transient form, pulse/chase experiments were performed. The results show that the % of apo B that was trypsin accessible, increased during the first 20 min of the chase, suggesting that during this time the trypsin accessible pool of apo B is not translocated (it does not become trypsin insensitive). If there is a pool of apo B associated with the cytoplasmic surface of the RER it should provide an antigen for immuno-isolation. Monoclonal antibodies against the N-terminal and C-terminal halves of apo B were bound to magnetic beads, which were incubated with increasing amounts of microsomes. Recovery of glucose-6-phosphatase was used as a measure of the isolation of RER. Monoclonal IgG against both domains of apo B were effective in specific isolation of RER, whereas non-immune IgG against albumin did not. The combined data support the concept that apo B translocation across the endoplasmic reticulum governs the entry of apo B into two functionally different pools: the intraluminal trypsin insensitive pool participates in the VLDL assembly/secretion pathway; the trypsin accessible non-translocated cytoplasmic pool is shunted away from the VLDL assembly/secretion pathway. Regulated translocation of apo B may provide a unique mechanism with which to determine the rate of VLDL assembly/secretion.

## SIMPOSIO MECANISMOS DE ACCION DE HORMONAS

Coordinador: *Luis Valladares*

**RELACION ENTRE ESTIMULO GONADOTROFICO RESPUESTA ESTEROIDOGENICA Y GRADO DE DIFERENCIACION DE LAS CELULAS DE LEYDIG TESTICULARES.** (Relationship between gonadotropic stimulation, steroidogenic response and degree of differentiation of testicular Leydig cells).

Chemes H, León M, Calvo J.C, Rey R, Charreu E.H, y Cigrraga S. División de Endocrinología, Hospital de Niños e IBYME, Buenos Aires, Argentina.

A través de varios modelos experimentales se explorarán las evidencias existentes sobre la heterogeneidad de las poblaciones celulares esteroídicas testiculares. Los elementos mesenquimáticos precursores de las células de Leydig de humanos y ratas, aún careciendo de la diferenciación citológica de tipo esteroídica, responden al estímulo con hCG con secreción de testosterona (T) y diferenciación hacia elementos maduros. Durante la maduración puberal de la rata, la desensibilización del testículo luego de la inyección de altas dosis de LH-hCG es de menor magnitud o más transitoria que la observada en animales adultos. Estos cambios en la respuesta bioquímica del testículo en maduración ante el estímulo gonadotrófico correlacionan con la cambiante relación cuantitativa de las poblaciones de células de Leydig diferenciadas y sus precursores y resultan del balance entre el incremento de receptores y enzimas esteroídicas en los precursores mesenquimáticos y la caída de receptores y presencia de lesiones enzimáticas en las células de Leydig maduras. En ratas adultas, la administración de dosis repetidas de hCG resulta en un estado de resensibilización con recuperación de la capacidad de responder a la reestimulación "in vitro" con hCG. Esta resensibilización es debida al efecto trófico-diferenciador de la hCG sobre los precursores mesenquimáticos. La capacidad esteroídica y de respuesta al hCG de los precursores mesenquimáticos testiculares es muy evidente en cultivos de fibroblastos testiculares de niños prepuperales que demuestran altos niveles de producción de testosterona y efecto citológico diferenciador de la hCG.

**MECANISMO DE ACCION DE HORMONAS: PERSPECTIVA FISIOLÓGICA.** (Physiologic perspective of the mode of action of hormones). Croxatto H.B., Forcelledo M.L. y Morán F. Unidad de Reproducción y Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile.

Un problema común al fisiólogo y al farmacólogo es descubrir los sitios de acción e interacciones endocrinas involucradas en el efecto que produce una hormona exógena. Esta tarea difiere a la del biólogo celular ocupado de la interacción hormona-célula, no obstante ambas contribuyen a entender el mecanismo de acción de las hormonas.

Se analiza, como ejemplo del enfoque fisiológico, los mecanismos por los cuales la administración de estradiol (E) por vía subcutánea (sc), o por infusión endovenosa (iv) en 200 min, pero no en 10 min, produce aceleración del transporte de embriones por el oviducto de la rata (TEO). El examen de concentraciones tisulares de E mostró que la falta de respuesta a E dado por iv en 10 min. no se explica por menor biodisponibilidad de la hormona.

Al comparar efectos de retroalimentación de E sc e iv sobre el eje gonadal, se descubrió que el estrés asociado al procedimiento de iv produce un aumento de progesterona (P) circulante de origen adrenal, mediado por la hipófisis, que no depende de la administración de E. El aumento de P y E en la circulación tienen el mismo curso temporal cuando E se da por iv en 10 min. E iv en 200 min o E sc prolongan el aumento de E circulante varias horas más que el de P y ambos aceleran el TEO. Cuando se previene el aumento de P por hipofisectomía o se antagoniza con la antiprogesterina RU486, E iv en 10 min acelera el TEO. Se concluye que el efecto de E exógeno sobre el TEO está modulado, en situaciones asociadas a estrés, por cambios concomitantes en la concentración plasmática de P.

ESTUDIO SOBRE RECEPTORES ADRENERGICOS EN EL OVARIO. (Ovarian adrenergic receptors studies). Aguado L, Carrizo D, Blazquez M, Rastrilla A.M. y Telleria C. Laboratorio de Biología de la Reproducción. Univ.Nac.de San Luis - San Luis - Argentina.

La función que cumplen las vías nerviosas que llegan al ovario, ha sido un problema que los investigadores han tratado de resolver desde hace muchos años. En nuestro grupo de trabajo encaramos el estudio del efecto adrenérgico. Para ello se caracterizaron los receptores adrenérgicos en el ovario de ratas prepuberales, utilizándose como sustrato cianopindolol 1-125, encontrándose se muy baja densidad de receptores en anestro y la Kd calculada por saturación o por método cinético fué de 0.044 nM. El estudio con agonistas y antagonistas mostró que los receptores son prácticamente B<sub>2</sub> puros. Un aspecto importante fué el hallazgo de que el número de sitios receptores se modifica a lo largo del primer ciclo astral. Los valores varían entre 10 y 40 fmoles/mg de proteínas. La estimulación adrenergica en incubaciones de ovarios enteros, con zinterol, un agonista B<sub>2</sub> mostró relación entre el número de sitios receptores y el efecto biológico expresado en producción de progesterona, androstenediona y testosterona, no así en estradiol. La sección de NOS mostró el desarrollo de hipersensibilización, con un aumento del número de sitios receptores en membrana de ovario. Este fenómeno pudo ser simulado "in vitro" con células granulosa en cultivo donde se mostró el efecto de la regulación negativa de la epinefrina y norepinefrina. Hubo una magnificación del efecto de la gonadotropina en la estimulación de la producción de progesterona cuando se co-incubaban con catecolaminas. El efecto adrenérgico además, muestra ser dependiente de la presencia en el medio de FSH. Hubo cierto grado de regulación heteróloga de los sitios adrenérgicos por LH, FSH y Prolactina que fue muy notable para corticosterona (B) los efectos de FSH y B parecen ser post-AMP cíclico.

THE GONADOTROPIN-SENSITIVE ADENYLYL CYCLASE SYSTEM: A NEW APPROACH IN UNDERSTANDING REGULATION OF CORPUS LUTEUM DURING THE MENSTRUAL CYCLE AND PREGNANCY IN THE HUMAN AND NONHUMAN PRIMATE. Rojas, F.J. Department of Obstetrics and Gynecology, University of California Irvine, Orange, CA 92668, USA.

The major luteotropic factors in primates that promote the growth of the corpus luteum (CL) and stimulate the secretion of progesterone during the menstrual cycle and early pregnancy are LH and hCG, respectively. There are, however, few studies on the mechanisms of gonadotropin action in this species. In order to understand the molecular events that control luteal function in primates, we have investigated the presence of LH/hCG-stimulable adenylyl cyclase (AC) in membrane preparations of human CL. We first established the experimental conditions to measure optimal expression of LH/hCG-induced AC and defined its properties and regulation by several hormones and nonhormonal activators. Our data revealed that the human luteal AC is linked to a guanine nucleotide regulatory component and that its activation is dependent on Mg ion. Having demonstrated the existence of functional components of the AC system in the primate CL, we then investigated basal activity, nonhormonal stimulation and responsiveness of AC to LH/hCG in luteal membranes from humans and cynomolgus monkeys at various stages of the menstrual cycle and pregnancy. In the menstrual cycle luteal AC responsiveness to LH/hCG was detectable during the midluteal phase, but not during the late luteal phase or in the follicular phase of the following cycle. Also, nonhormonal stimulation was high in CL obtained during the midluteal and late luteal phases, but declined drastically by the follicular phase of the next cycle. In early pregnancy the enzyme was unresponsive to LH/hCG stimulation, yet its sensitivity to nonhormonal stimulation was similar, if not identical, to that of midluteal phase CL. Functional activity was also evident at the end of pregnancy. These results demonstrate that expression of AC activity in human luteal membrane changes significantly with varying hormonal status under physiological conditions. Because the gonadotropin-sensitive AC system represents the capacity of the LH/hCG receptors to couple and elicit a response, these data provide new insights into the regulation of corpus luteum life span and function in primates.

## SIMPOSIO INMUNOLOGIA DE LA REPRODUCCION

Coordinador: *Alfredo de Ioannes*

SIMPOSIO: INMUNOLOGIA DE LA REPRODUCCION (Reproductive Immunology). Participantes: Ahuja K., Blaquiere J., De Ioannes A.E., Goldberg E., Saling P.M.

Coordinador: De Ioannes A.E. Unidad de Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La fecundación interna y la placentación son adaptaciones que han sido determinantes en las estrategias reproductivas de los vertebrados superiores. Desde el punto de vista inmunológico, la inseminación representa la introducción de material potencialmente inmunogénico del macho en la hembra y el desarrollo intrauterino puede ser considerado como un alotrasplante. Los espermatozoides por su parte son también potencialmente inmunogénicos en los machos porque la espermatogénesis comienza en la pubertad, cuando la tolerancia inmunológica se ha establecido. A pesar de estas consideraciones, la infertilidad inmunológica es una patología poco frecuente en machos y hembras, esto sugiere que en los animales superiores se han desarrollado mecanismos que compatibilizan la coexistencia de un sistema inmune altamente sofisticado con esta modalidad reproductiva. La inmunología de la reproducción tiene como propósito el estudio de los mecanismos que controlan la respuesta inmune contra los gametos, tejido fetal y las causas de la infertilidad de origen inmunológico.

En este simposium se discutirán las propiedades funcionales y estructurales de antígenos espermáticos involucrados en la fertilización. Esta información es fundamental para el estudio y tratamiento de la infertilidad de origen inmunológico y además, posibilita el desarrollo de métodos alternativos para la regulación de la fertilidad.

11. PAPEL DE ACROSINA Y ANTICUERPOS ANTI-ACROSINA EN LA INTERACCION DE GAMETOS (Role of acrosin and antibodies to acrosin in gamete interactions) De Ioannes, A.E., Becker, M.I., Barros, C. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Acrosina es una serina proteasa localizada en el acrosoma de los espermatozoides de mamífero, que por su liberación durante la reacción acrosómica, actividad enzimática y sitio de unión a fucosa, podría tener un papel importante en la interacción de los espermatozoides con la zona pelúcida. La adición de anticuerpos contra acrosina o inhibidores específicos de serinas proteasas al medio de fertilización in vitro inhibe la fecundación, sin embargo, la inmunización activa de animales de experimentación no disminuye la fertilidad.

Para investigar el mecanismo de acción de la acrosina a nivel de la unión de espermatozoides homólogos a la zona pelúcida de hamster y humana, se ha estudiado mediante microscopía de luz y electrónica de barrido el efecto de anticuerpos monoclonales (AMC) contra acrosina y el inhibidor de tripsina del poroto de soja (SBTI) en la interacción in vitro de espermatozoides sobre la superficie de la zona.

Nuestros resultados muestran tanto en hamster como en humanos que la co-incubación de los gametos en presencia del AMC ACRO-C2E5 y de SBTI, aunque impide la penetración de los espermatozoides, algunos de ellos alcanzan a interactuar con la zona dejando huellas con restos de membranas acrosomales en la superficie. Estas huellas se podrían explicar por la liberación masiva de la enzima durante la reacción acrosómica la cual no alcanza a ser neutralizada por los inhibidores y produce una proteólisis local de la zona.

El conjunto de estas observaciones permiten proponer que acrosina además de su papel clave en penetración al hidrolizar ZP1 y ZP2, expondría azúcares presentes en ZP2 para interactuar con el sitio de unión a fucosa de proacrosina.

**PARTICIPATION OF HUMAN EPIDIDYMIS SPERM COATING ANTIGENS IN FERTILIZATION.** (Participación de antígenos epididimales de la cubierta del espermatozoide humano en fertilización). Sanjurjo, C., Davidovsky, A., Casero, M.S., Gonzalez, F., Blacquier, J. <sup>1</sup>Fertilab, Paraguay 2302, 1121 Buenos Aires, Argentina, and <sup>2</sup>Instituto de Biología y Medicina Experimental, Obligado 2490, Buenos Aires, Argentina.

A polyclonal antiserum directed against human sperm coating proteins of epididymal origin (Anti-KCl) was tested for its ability to alter sperm function.

Spermatozoa from normal ejaculates were selected by swim up and capacitated by overnight incubation at room temperature. Exposure of these cells to Anti-KCl (1:6 dilution) prior to use in hamster ova penetration test reduced by 64% the penetration of denuded oocytes. Inhibitions of lesser magnitude were observed at higher serum dilutions. This effect was exerted without noticeable changes in sperm motility and in the absence of major agglutination. Anti-KCl did not inhibit the occurrence of spontaneous and induced (by human follicular fluid) acrosome reaction in capacitated spermatozoa. In contrast, exposure to Anti-KCl reduced the ability of spermatozoa to bind tightly to the hamster oolemma. All these effects were not elicited by a similar preparation obtained from pre-immune rabbit sera. Exposure of zona-free oocytes to antiserum did not change their penetrability by normal sperm. These results suggest that the antigens recognized by Anti-KCl participate in the process of fertilization.

**AN ANALYSIS OF THE OOCYTE SURFACE AFTER CORTICAL GRANULES RELEASE.** (Un análisis de la superficie del ovocito después de la liberación de los granulos corticales). Ahuja, K.K., Lee, S.H., Whittingham, D.G. MRC Experimental Embryology and Teratology Unit, St. George's Hospital Medical School, Cranmer Terrace, London SW17 0RE, U.K.

The release of cortical granules (CG) and the completion of meiosis are two of the earliest responses observed during the process of mammalian oocyte activation induced by either the entry of a fertilizing spermatozoon or by artificial activating agents. The newly released CG contents modify the properties of the oocyte plasma membrane and the overlying zona pellucida to prevent the entry of further spermatozoa into the oocyte, the so-called "block to polyspermy".

An immunocytochemical method has been established to study the kinetics of the release of CG glycoconjugates and their fate during the early stages of development in the mouse. We extended those studies involving UEA-I to rat, golden hamster and human oocytes. FITC-UEA-I binding to the plasma membranes of rat, hamster and human oocytes showed a punctuate distribution over the entire surface except the microvilli-free area overlying the meiotic spindle which is known to lack CG. The CG-free area of the rat oocytes was identical to the mouse but it was smaller in the hamster and rather insignificant in the human fertilized oocytes.

It is tempting to suggest that the fucosyl glycoconjugates may be universally present in the CG of mammalian oocytes and a simple staining method involving FITC-UEA I should provide a powerful tool for the study of fertilization-associated changes in mammalian oocytes.

**THE M42 ANTIGEN (p200/220) OF MOUSE SPERM: BIOCHEMICAL, PHYSIOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL CHARACTERIZATION** (Antígeno M42 (p200/220) del espermatozoide de ratón: Caracterización bioquímica, fisiológica e inmunológica). Saling, P.M., Carron, C.P., Lakso, K.A., and Leyton, L. Depts. of <sup>1</sup>Ob/Gyn, <sup>2</sup>Cell Biology and <sup>3</sup>Zoology, Duke University, Durham, North Carolina, USA.

To study fertilization, we have generated anti-sperm monoclonal antibodies (mAbs). One of these, M42 mAb is restricted to the plasma membrane over the acrosome in mature sperm. M42 mAb blocks mouse fertilization, both *in vitro* and *in vivo* by blocking an initial event of the acrosome reaction. M42 mAb recognizes a doublet of 200/220 kD (p200/220) in cauda epididymal sperm. Caput sperm display M42 Ag with Mr 220/240 kD, suggesting that M42 Ag is modified post-translationally during epididymal transit. Other results suggest that this change may be related to acquisition for fertilizing function. Enrichment of p200/220 ( $\approx 21,000$ -fold) has been achieved using HPLC gel filtration and ion exchange, coupled with affinity chromatography, and indicates that p200/220 is an acidic glycoprotein with differentially charged subunits. 'Native' p200/220 probably exists as a 600-700 kD oligomer. Active immunization of mice with p200/220, aimed at infertility induction, has been a long-term goal. Use of sperm-derived p200/220 appears unrealistic and we have investigated the use of anti-idiotypic Abs (anti-Ids) directed against p200/220 to mimic native antigen. Monoclonal anti-Id M42 Abs, termed anti-Id 6E8 and anti-Id 7D2, appear to recognize overlapping, but not identical, epitopes of M42 mAb. The anti-Ids completely inhibit M42 mAb binding to sperm, and soluble p200/220 inhibits anti-Id binding to M42 mAb. Immunization of mice with anti-Ids induced idiotypic-reactive anti-(anti-Id) Abs, i.e., Abs with specific p200/220-binding activity.

Two major results have emerged to date: a) sperm antigens with contraceptive potential can be identified through the careful use of mAbs, and b) use of anti-Ids can replace purified native antigen for contraceptive purposes.

Supported by the NIH and the A.W. Mellon Foundation.

**TESTES-SPECIFIC LACTATE DEHYDROGENASE LDH-C4 AND DEVELOPMENT OF A CONTRACEPTIVE VACCINE.** (Deshidrogenasa láctica específica de testículo LDH-C4 y al desarrollo de una vacuna anticonceptiva). Goldberg, E. Department of Biochemistry, Molecular Biology and Cell Biology, Northwestern University, Evanston, Illinois, USA.

LDH-C4 has been used as a model sperm antigen for immunocontraception. This protein is immunogenic in males and females, and the antibodies which are produced are absolutely tissue-specific. Because the molecular structure of LDH-C4 is known we have been able to map antigenic determinants and to design synthetic peptides that provoke antibodies that recognize the native protein. In a fertility trial, pregnancy was significantly reduced in female baboons immunized with a synthetic peptide sequence of 12 amino acids representing the amino terminus of LDH-C4. Recombinant DNA and genetic engineering technology have been employed to express human LDH-C4 in *E. coli*, and to obtain recombinant vaccinia virus containing the LDH-C4 gene coding region. These results will be discussed in terms of immuno-contraception.

This research is supported by grants from the National Institutes of Child Health and Human Development, USPHS.

## SIMPOSIO PROLIFERACION CELULAR Y ONCOGENES

Coordinadores: *Myriam Santos*<sup>1</sup>, *Remigio López*

PROLIFERACION CELULAR Y ONCOGENES (Cell proliferation and oncogenes) *López Solís, R.O.* y *Santos, M.* Dpto. Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los mecanismos participantes en la regulación de la proliferación celular son escasamente conocidos. En general, se concibe que señales extracelulares son responsables de la transición reposo proliferativo-proliferación y viceversa. La caracterización de tales señales, los procesos que ocurren en las células blanco y la relación de éstos con la modulación de la respuesta proliferativa, son motivos de interés en la actualidad.

En el presente simposio se discutirá, a base de la información derivada de distintos sistemas experimentales *in vitro* e *in vivo*: 1.- la posible relación entre la inducción de proliferación celular y crecimiento celular, 2.- la complejidad de la activación génica que ocurre inmediatamente después de la recepción de la señal inductora de proliferación, 3.- la relación aparentemente excluyente entre proliferación celular y diferenciación celular, 4.- la relación entre la expresión de oncogenes nucleares y la transformación celular y 5.- la interacción entre oncoproteínas virales y oncoproteínas celulares en relación a la proliferación de células transformadas por virus. En síntesis, se analizarán mecanismos que pudieran participar en el control normal de la proliferación celular y las posibilidades que una alteración de los mismos pudiera resultar en el proceso neoplásico.

CRECIMIENTO CELULAR Y PROLIFERACION CELULAR (Cell growth and cell proliferation). *López Solís, R.O., Viaz, M., Alliende, C., González, M.J., Peña y Lillo, S.; Viaz, M. y Castillo, L.* Dpto. Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Usualmente, una célula que se va a dividir debe crecer. Así, junto con los procesos propios de la proliferación celular (síntesis de DNA y mitosis) existen procesos que pudieran ser propios del crecimiento celular.

Un sistema que ha servido de modelo en estudios de proliferación celular consiste en la estimulación de las células acinares de las glándulas parótidas por isoproterenol (IPR), un agonista  $\beta$ -adrenérgico.

Se ha demostrado que al inducir proliferación celular, isoproterenol induce la aparición de novo de una familia de polipéptidos de naturaleza secretoria (polipéptidos C,D,E,F y G). A fin de evaluar una eventual relación entre los polipéptidos C,D,E,F y G y las vías de síntesis de DNA-mitosis o del crecimiento celular, se buscó separar ambas respuestas. La administración crónica diaria de IPR permitió inducir diferencialmente proliferación y crecimiento celular (primeros 4-5 días) o sólo crecimiento celular (5-12 días de tratamiento). Bajo estas condiciones se logró establecer que la acumulación de los polipéptidos C,D,E,F y G corresponde más bien a la respuesta de crecimiento celular. Utilizando tales polipéptidos como marcadores moleculares del crecimiento de las células acinares y recurriendo al uso de inhibidores metabólicos (actinomicina D) y de agonistas (dobutamina, salbutamol) y antagonistas (atenolol, ICI 118511)  $\beta$ -adrenérgicos se logró establecer que la inducción del crecimiento requiere 1) la mediación de receptores  $\beta$ 1-adrenérgicos de la membrana plasmática, 2) una interacción prolongada (2-3 horas) entre IPR y receptores  $\beta$ -adrenérgicos y 3) actividad transcripcional. Estas características parecen ser análogas a aquellas de las que depende la inducción de síntesis de DNA-mitosis en este sistema. Considerando la naturaleza secretoria de los polipéptidos C,D,E,F y G se ha logrado asimismo establecer que en células que han aumentado de tamaño y que no responden experimentando síntesis de DNA-mitosis, la resíntesis post-secreción de los polipéptidos es independiente de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos y de la actividad transcripcional pero relacionada a la actividad secretoria. De este modo, el crecimiento celular en ausencia de proliferación celular parece corresponder a una respuesta de adaptación a la hiperactividad secretoria.

IDENTIFICACION DE GENES INDUCIBLES POR FACTORES DE CRECIMIENTO (Identification of growth factor inducible genes) *Brevo, R. Kovary, K., Macdonald-Brevo, H. y Rybeck, R.-P.* Department of Molecular Biology, The Squibb Institute for Medical Research, P.O.Box 4000, Princeton, NJ 08543

El panorama que emerge del estudio de la respuesta genómica temprana de fibroblastos a los factores de crecimiento es de una complejidad considerable. Al menos 80 cDNAs correspondientes a genes tempranos inmediatos han sido aislados. Varios de estos genes codifican factores de transcripción conocidos o presuntos, tales como *c-fos*, *fra-1*, *fos B*, *Krox-20*, *Krox-24*, *c-jun* y *jun B*.

Recientemente hemos identificado otro gen temprano inmediato (N10), el cual presenta una similitud significativa con la superfamilia de receptores nucleares que unen ligandos, entre las que se encuentran la familia de receptores de hormonas esteroidales y la familia de receptores tiroideos. La mayor similitud se restringe a una región de aproximadamente 70 aminoácidos, la que se corresponde con el dominio de unión a DNA de los receptores. Esta región contiene dos sectores tipo dedos de zinc. La proteína N10 está localizada en el núcleo y tiene una vida media aproximada de 30 minutos en fibroblastos estimulados.

El gen está compuesto por 7 exones distribuidos en un segmento de 6.5 kb. Los sectores tipo dedos de zinc están en exones separados, al igual que en otros miembros de la superfamilia. Sin embargo, en N10 la ubicación del intrón que separa los exones correspondientes a los sectores tipo dedos de zinc es diferente a la descrita para todos los demás miembros de la superfamilia. Esto sugiere que N10 representa una nueva familia de receptores que unen ligandos nucleares.

MOLECULAR APPROACHES TO THE RELATIONSHIP BETWEEN PROLIFERATION AND INITIATION OF OSTEOBLAST PHENOTYPE DEVELOPMENT. *Gary S. Stein and John B. Lian.* Dept. of Cell Biol., Univ. of Mass. Med. Ctr. Worcester, MA 01655.

The relationship of proliferation to the known developmental sequence associated with bone cell differentiation was examined in primary fetal rat calvarial derived osteoblasts (OB) using autoradiography, histochemistry, biochemistry and mRNA assays of OB cell growth and matrix genes. Initially, actively proliferating cells produce a fibronectin/Type I collagen extracellular matrix (ECM). A reciprocal relationship between the decline in proliferative activity and the induction of genes associated with matrix maturation and mineralization is supported by (1) a temporal sequence of events in which there is initially an enhanced expression of alkaline phosphatase (AP) immediately following the proliferative period with subsequent increased expression of osteocalcin (OC) and osteopontin (OP) at onset of mineralization; (2) increased expression of AP and OP when DNA synthesis is inhibited by hydroxyurea; (3) enhanced levels of the osteoblast markers (AP, OP, OC) as a function of ascorbic acid induced collagen deposition, suggesting that the ECM contributes to both the shutdown of proliferation and expression of the OB phenotype. By determining cellular mRNA levels and rates of mRNA synthesis in isolated nuclei, the down-regulation of cell growth related genes was found to be modified by transcription and mRNA stability. The down-regulation of a histone gene is associated with onset of OB differentiation and is transcriptionally mediated by selective loss of the interaction of a promoter binding factor (CMF-B) with a proximal regulatory element (Site II). This is supported by the persistence of Site II-Min-D interactions when proliferating rat OB's are growth arrested under conditions that do not induce differentiation (i.e., induction OB markers), indicating that loss of this transcription factor is a marker of differentiation. In summary, appearance of markers of the OB phenotype appear to be induced by the down-regulation of proliferation. This is dependent upon extracellular matrix formation which supports the OB developmental sequence to a restriction point where mineralization and expression of other OB genes (e.g., OC) is required for completion of OB differentiation.

NUCLEAR PROTO-ONCOGENES MYC, FOS AND JUN : POSSIBLE ROLE IN MALIGNANT TRANSFORMATION CAUSED BY POLYOMA AND SIMIAN SARCOMA VIRUS (SSV).

Mari C.S. Armelin, Lucia E. Rameh and Martha H. Sonobe  
Universidade de Sao Paulo, Instituto de Química, C.P. 20.780 - Sao Paulo, Brasil.

The SVV v-sis oncogenic sequence codes for a 28 KDa protein (p28<sup>v-sis</sup>) that is homologous to PDGF (platelet-derived growth factor). An autocrine mechanism has been invoked as the basis for SSV-transformation. PDGF controls cell proliferation via the induction of a few cellular genes among which the nuclear proto-oncogenes *myc*, *fos* and *jun*. No cellular homologs to Polyoma T antigens oncogenic sequences have been found. However, both Polyoma and SSV transformation render Balb-3T3 cells PDGF-independent. We have been studying the role played by nuclear oncogenes' expression in viral transformation using DNA-mediated transfection of cloned v-sis and Polyoma large and middle T antigen cDNAs. Stable integration of viral sequences and expression in transfectant cell lines are confirmed by, respectively, Southern and Northern hybridization. Expression of PDGF-inducible *myc*, *fos* and *jun* proto-oncogenes is examined by S1 nuclease protection, Northern and Western blotting.

Supported by : FINEP, FAPESP, CNPq, CAPES.

DINAMICA DE LA INTERACCION ENTRE LA ONCOPROTEINA CELULAR p53 Y LA ONCOPROTEINA DEL VIRUS SV40. (DYNAMICS OF THE INTERACTION BETWEEN THE CELLULAR ONCOPROTEIN p53 AND THE SV40 VIRAL ONCOPROTEIN).

Santos, M., Corvalán, A., Ordóñez, G.E. y Arenas, C.P.  
Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El proto-oncogen celular p53 codifica para una proteína (p53) que parece regular la transición G0/S. Células normales quiescentes no expresan dicha proteína, pero su entrada en el ciclo proliferativo se acompaña de un aumento paulatino en el contenido celular de la p53, que decae nuevamente al término de la mitosis. Por el contrario, una variedad de células transformadas e incluso células de tumores humanos presentan niveles permanentemente elevados de la p53. Este hecho, que podría ser un factor determinante de la mantención de estas células en continua proliferación, parece resultar de la interacción física de la p53 con proteínas particulares. En las células transformadas por SV40, la p53 se asocia con la oncoproteína viral, el antígeno tumoral mayor (ag-T). Si ambas oncoproteínas, en sus formas libres o asociadas, participan en el control de la proliferación de estas células, sería esperable que las interacciones entre sí o con estructuras celulares particulares sean dinámicas. Estudios inmunocitoquímicos y radioinmunoquímicos han mostrado que sólo las células en proliferación expresan p53 y ag-T en su superficie, mientras que la distribución intranuclear de ambas, su asociación con estructuras subnucleares particulares, su estabilidad, su velocidad de maduración y aparentemente su cinética de asociación-disociación, varían en función de la proliferación celular. Los resultados sugieren que el dinamismo postulado existe y que podría deberse a cambios estructurales del ag-T y/o de la p53 en relación con la actividad proliferativa. Proyectos : 447/87 Fondecyt; B2366 UCh; 59CHL24 TWAS.

## SIMPOSIO CITOESQUELETO

Coordinador: *Octavio Monasterio*

CYTOSKELETON SYMPOSIUM PRESENTATION. (Presentación del Simposio "Citoesqueleto"). Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

This symposium is mostly directed toward the analysis of microtubules, one of three principal filamentous elements of the cytoskeleton. They are mainly formed through the self-association of tubulin. Work during the past 15 to 20 years has demonstrated that microtubules are dynamic structures which are regulated predominantly by the levels of calcium and GTP and by the interaction with 'microtubule-associated proteins' and other proteins. The effect of colchicine and other natural drugs on the assembly of microtubules has been extensively studied *in vitro* and *in vivo*. In this respect, the synthesis of new drugs which bind reversibly to tubulin and depolymerize microtubules constitutes a novel approach. This has allowed the study of the function of microtubules *in situ*. The use of antibodies to specific regions of the tubulin subunits has suggested the regions of the dimers involved in protofilament formation. Genetic analysis and cloning of tubulin and intermediate filament proteins have been successfully used to understand the relationship between function and structure of these proteins and to understand how they are regulated at the translational and post-translational levels. New findings related to the mechanism involved in the assembly of microtubules and other components of the cytoskeleton will be thoroughly reviewed.

The knowledge of the relationships between the structure of the cytoskeleton proteins and the mechanisms that regulate their function in the cell will be hopefully understood at a molecular level in a near future.

INTERACCIONES MACROMOLECULARES QUE REGULAN EL ENSAMBLAJE DE LOS MICROTUBULOS. Maccioni, R.B. Int. Center for Cancer and Developmental Biology, Santiago, Chile and Univ. Colorado Health Sciences Center, Denver CO, U.S.A.

Hemos estudiado la subestructura del dominio C-terminal de  $\alpha$  y  $\beta$ -tubulina y su relación con la interacción de proteínas asociadas (MAPs) y el control de la polimerización de los microtúbulos. Se utilizaron tres enfoques: proteólisis enzimática controlada, uso de péptidos sintéticos y anticuerpos antipeptidos y anti-idiotípicos. Los estudios de proteólisis demostraron que un dominio de 4kDa de la región C-terminal de  $\alpha$  y  $\beta$ -tubulina es crítico para la regulación de la polimerización. Los estudios de unión revelaron que los péptidos  $\alpha$ (K430-G441) y  $\beta$ (Y422-E434) interactúan selectivamente con las distintas MAPs. Los estudios inmunológicos utilizando los anticuerpos antipeptidos (Ab-1) confirmaron la participación de los subdominios de  $\alpha$  y  $\beta$ -tubulina definidos por estos péptidos en la unión de las MAPs y que el bloqueo específico de esta interacción impide la polimerización. Nuestras conclusiones están apoyadas por el descubrimiento de anticuerpos anti-idiotípicos (Ab-2) en el suero de conejos inmunizados con los péptidos descritos, los cuales reaccionan específicamente con las MAPs. Estos anticuerpos nos han entregado valiosa información acerca de los dominios de las MAPs involucrados en sus interacciones con los microtúbulos. Péptidos sintéticos de las secuencias repetitivas de tau, V187-G204 y V218-G235, contienen los determinantes antígenicos reconocidos por los anticuerpos Ab-2. Los estudios indican que tau y MAP-2 comparten dominios estructuralmente similares para la interacción de la tubulina. (Financiado por Council for Tobacco Research, USA, American Heart Assoc. y Alzheimer Disease & Related Disorders Assoc.)

ESTRUCTURA Y ENSAMBLAJE DE TUBULINA EXAMINADOS CON ANTICUERPOS DE ESPECIFICIDAD PREDETERMINADA (Tubulin structure and assembly probed with antibodies to synthetic peptides). Andreu, J.M.<sup>1</sup>, Arevalo, M.A.<sup>2</sup>, Nieto, J.M.<sup>1</sup> y Andreu, D.<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Centro de investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid y <sup>2</sup>Depto. Química Orgánica, Universidad de Barcelona, España.

Se sintetizaron péptidos correspondientes a las posiciones conservadas e hidrofílicas de las secuencias de tubulina  $\alpha$ (155-168),  $\beta$ (153-165),  $\alpha$ (214-226),  $\beta$ (241-256),  $\alpha$ (430-443),  $\alpha$ (425-443) y  $\beta$ (412-431). Contra estos péptidos se produjeron anticuerpos que reaccionan específicamente con las secuencias homólogas de la proteína, que están expuestas en la superficie del heterodímero  $\alpha$ - $\beta$  tubulina. Mediante proteólisis limitada e inmunoblot con los anticuerpos monoespecíficos se determinó que cada monómero de tubulina consta de tres tipos mayoritarios de fragmentos compactos y tres bucles de proteólisis preferencial (Biochemistry 27, 5352-5365, 1988). Los anticuerpos contra las zonas próximas al extremo C-terminal [ $\alpha$ (430-443),  $\alpha$ (415-443) y  $\alpha$ (412-431)] perturbaban subestequiométricamente el ensamblaje de tubulina purificada, induciendo la formación de microtúbulos, microtúbulos abiertos o hojas.

En microtúbulos nativos de células Ptk2 y en microtúbulos de tubulina purificada inducidos in vitro por taxol las zonas  $\beta$ (153-165),  $\alpha$ (430-443) y  $\beta$ (412-431) permanecen expuestas, mientras que  $\alpha$ (155-168),  $\alpha$ (214-226) y  $\beta$ (241-256) son ocluidas por el ensamblaje de tubulina. Las posiciones  $\alpha$ (214-226) y  $\beta$ (241-256) están probablemente implicadas en las interacciones axiales entre heterodímeros de tubulina para formar los protofilamentos, mientras que  $\alpha$ (241-256) y  $\beta$ (214-226) deben ser cercanas a la interfase de unión entre los monómeros  $\alpha$  y  $\beta$  en el heterodímero de tubulina.

DYNAMIC ASPECTS OF MICROTUBULE ASSEMBLY. Timasheff, S. N., Graduate Department of Biochemistry, Brandeis University, Waltham, MA 02254, U.S.A.

In a large excess of GTP the assembly of microtubules can be described thermodynamically as a pseudo-equilibrium in terms of the Ozawa theory of nucleated polymerization. The hydrolysis of the E-site GTP subsequent to assembly, the constant diffusional exchange of tubulin monomers at the two ends of steady state microtubules and the differences in assembly-disassembly kinetics at the two ends render microtubules into a dynamic system. Well known consequences are the treadmilling phenomenon in *in vitro* assembled microtubules and the dynamic instability observed in cellular systems. The GTP hydrolysis leads to a heterogeneous structure of microtubules, with a small GTP-tubulin cap at each end and GDP-tubulin making up the bulk of the assembled structure. Since GDP-tubulin is unable to assemble into microtubules but favors the formation of double rings, the core of the organelles is unstable and the stabilization is imparted by the caps at the two ends. The favored assembly geometry in the two states (microtubules with GTP-tubulin, double rings with GDP tubulin) has led to the conclusion that tubulin exists in two principal conformational states, "straight" and "curved", their equilibrium being allosterically controlled by the state of phosphorylation of the nucleotide (Melki, Carlier, Pantaloni and Timasheff, Biochemistry, 1989, in press). The recent important discovery by Carlier et al., (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1987, 84, 5257) of synchronous oscillations in microtubule assembly from pure tubulin can be understood in terms of the dynamics and relative kinetics of GTP-GDP exchange on tubulin, double ring assembly and disassembly and diffusional exchange of tubulin molecules at microtubule ends. (Supported by NIH grants CA-16707 and GM-14603).

THE DEFINITION OF THE ROLE OF MICROTUBULE IN PROTEIN SECRETION BY THE USE OF TMB, A COLCHICINE ANALOGUE WHICH BINDS REVERSIBLY TO TUBULIN. Gorbunoff, M., Herman, G., Bussan, S., Mauduit, P. and Rossignol, E. Graduate Department of Biochemistry, Brandeis Univ., Waltham, MA U.S.A.; Labo. de Biochimie des Transports Cellulaire, CNRS, Univ. Paris-Sud, Orsay, France; Centre de Cytologie Experimentale, Ivry, France.

The role of microtubules in the secretion of <sup>3</sup>H-labeled proteins in rat lacrimal glands was probed by the use of 2,3,4,4'-tetramethoxy-1-1'-biphenyl (TMB), which is a colchicine analogue that binds reversibly to tubulin. Immunofluorescence studies have shown that TMB at a 100 M level destroys in less than 10 minutes the microtubule network in acinar cells of rat ex-orbital glands. Removal of TMB led to the restoration of the microtubular system in less than 20 minutes, even after a 4 hour treatment with the drug. The protein-secretory process was examined by adding the drug at various stages. The results have shown that: a) the presence of TMB only during the phase of granule migration gives no inhibition of the discharge; b) the presence of TMB during granule maturation, and its subsequent removal for 60 minutes slows down the transport of newly synthesized proteins, but the granules keep their ability to be discharged; c) the presence of TMB during both the phases of granule maturation and migration, then removal from the incubation medium, renders impossible the discharge of the labeled proteins. The conclusions were: a) microtubules are involved during the maturation of the granules, but not their migration; b) inhibition of the discharge is of two types: during short incubations (70 min), it is transient; when the incubations are longer, the secretory granules are destroyed by lysozomes. (Supported by NIH grant CA-16707).

MICROTUBULES AND NEUROFILAMENTS: DETERMINANTS OF AXONAL STRUCTURE AND FUNCTION. D.W. Cleveland<sup>\*</sup>, M.J. Monteiro<sup>\*</sup>, H.C. Joshi<sup>\*</sup>, J. Gearhart<sup>\*</sup> and E.N. Hoffman<sup>\*</sup>, Departments of Biological Chemistry, Physiology and Neurology and Ophthalmology<sup>\*</sup>, The Johns Hopkins Univ. School of Medicine, Baltimore, MD 21205 USA.

Neurons are highly asymmetric cells whose cytoarchitecture is established principally by two components: microtubules and neurofilaments. Microtubules are rigid polymers that both support neurite elongation and form the linear tracks for particle transport into the axon. The principal components of microtubules,  $\alpha$  and  $\beta$  tubulin, are each encoded by a small multigene family comprised of about 6 functional genes. For  $\beta$  tubulin, five of these (which encode 5 different  $\beta$  tubulin isotypes) are expressed in neurons. These isotypes are not biochemically equivalent since two are preferentially assembled and one is partially excluded from neurites. What role, if any, such isotype distinctions play in microtubule function is still unsettled, but double label immunogold electron microscopy reveals that axonal microtubules are assembled as nearly random copolymers of the axonal isotypes.

Neurofilaments (NF), the intermediate filament proteins of axons, are synthesized and assembled primarily after neurite elongation is completed. In myelinated axons there is a linear correlation between axonal cross sectional area and NF number. Further, following crushing (axotomy) of a peripheral nerve, a reduction in diameter that progresses from the cell body outward is accompanied by a reduction both in NF number and in newly synthesized NF subunits transported into the axon. In view of these findings we have proposed that NF are intrinsic determinants of axonal diameter. To test this proposal, we have used DNA transfection of cloned NF-L, NF-M and NF-H genes to identify domains of the mouse NF subunits necessary for filament formation. Not surprisingly, the 310 amino acid conserved  $\alpha$  helical rod domain is essential for assembly. In transgenic mice that express additional wild type or mutant NF-L genes, we find that NF-L can be expressed and assembled at high levels (2% of cell protein) in non-neuronal cells without major effect. However, expression of a 20 fold excess of transgene RNA in neurons does not yield any increase in NF-L protein. This may be due to a translational or post-translational mechanism that restricts NF accumulation in neurons.

## SIMPOSIO LA BIOLOGIA CELULAR EN IBEROAMERICA

Coordinadora: *María Inés Becker*

**SIMPOSIO: LA BIOLOGIA CELULAR EN IBEROAMERICA** (Cell Biology in Iberoamérica).  
**COORDINADOR:** María Inés Becker. Blos Chile y Unidad de Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La Biología Celular es una de las áreas que mayor desarrollo ha tenido en la última década, debido a que es un punto de convergencia de casi todas las disciplinas biológicas.

El objetivo de este simposio es analizar el estado actual de la Biología Celular en Iberoamérica bajo tres aspectos: 1) Productividad científica en el periodo 1983-1987. Esta información permitirá una evaluación cuantitativa del nivel en que estamos. 2) Situación del post-grado en Argentina, Brasil, Chile, España, México y Venezuela. Esta actividad es fundamental para renovar los recursos humanos que son la base para generar y asimilar nuevos conocimientos. 3) Impacto del conocimiento básico de Biología Celular en el desarrollo de la Biotecnología en Iberoamérica. Este aspecto no podía quedar fuera del simposio porque representa uno de los desafíos más importantes a futuro para solucionar problemas regionales.

De este análisis se puede concluir que aunque en algunos países existen grupos de investigación con prestigio mundial, se han constituido Sociedades Científicas y programas de post-grado, la productividad científica en Iberoamérica es aún incipiente, puesto que aporta aproximadamente el 1% al total de las publicaciones mundiales en el área.

Patrocinio: RELAB y Laboratorio Chile S.A.

**PRODUCTIVIDAD CIENTIFICA EN BIOLOGIA CELULAR DE LOS PAISES IBEROAMERICANOS: 1983-1987.** (Scientific productivity in Cell Biology from Ibero-American countries: 1983-1987).

Becker, M.I. y Bekros, C., Blos-Chile IG.SA y Lab. Embriología, Fac. Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Una manera de evaluar el desarrollo de un área del conocimiento científico en un país y su trascendencia en el contexto mundial de la investigación, es determinar el número de publicaciones en revistas internacionales con comité editorial.

Con este propósito, se determinó mediante una encuesta cuáles eran las revistas más importantes en Biología Celular y posteriormente, se hizo un catastro de los trabajos publicados en las revistas seleccionadas, en que al menos uno de los autores fuera de filiación iberoamericana, durante el periodo 1983-1987.

Se destaca en este estudio que: 1) De un total de 32 revistas seleccionadas, que incluyen Nature y Science, las de mayor impacto en esta área son: J. Cell Biol.; Cell; PNAS; Eur. J. Cell Biol.; J. Biol. Chem.; Exp. Cell Res. y EMBO. J. 2) Resultados preliminares muestran que la productividad iberoamericana es alrededor del 1% del total de publicaciones en las revistas analizadas. 3) Entre los países iberoamericanos, el país con mayor número de publicaciones es España (48%), le siguen Chile (22%), México (9%), Argentina (7%), Brasil (4%) y Venezuela (4%). El resto de los países tienen una escasa contribución.

La baja productividad requiere un análisis de la comunidad de biólogos celulares iberoamericanos, a fin de tomar acuerdos que permitan impulsar el desarrollo de esta área mediante la destinación de mayores recursos y también mediante el fortalecimiento de los programas de Post-Grado.

**ESTADO ACTUAL DE LA INVESTIGACION CELULAR EN LA ARGENTINA.** Bucios, M. IHEM. Univ. Nac. de Cuyo. Mendoza, Argentina.

En la Argentina no existe específicamente un doctorado en Biología Celular sino los clásicos doctorados relacionados a esta disciplina en Ciencias Médicas, Ciencias Agropecuarias, Ciencias Biológicas y Ciencias Químicas. Los licenciados que aspiran al título de doctor deben completar y aprobar una tesis de doctorado bajo la dirección de un director y con un aporte de investigación científica original. Estos licenciados son apoyados durante este periodo por becas otorgadas por instituciones oficiales o privadas (Universidad, CONICET y Fundaciones). Tomando como ejemplo al CONICET, de los 2227 becarios que trabajan dentro del país, 287 corresponden a Ciencias Biológicas, 210 a Ciencias Médicas, 163 a Ciencias Agropecuarias y 218 a Ciencias Químicas. A estas hay que adicionar unas 130 becas externas.

Existen aproximadamente 27 centros equipados como para que estos licenciados puedan completar su formación y alcanzar el doctorado. Luego de completar el periodo de becario pueden ingresar a la carrera de investigador del CONICET o a posiciones de dedicación exclusiva en las Universidades. En la actualidad en las cuatro ramas del conocimiento mencionadas, el número de miembros de la Carrera del Investigador supera el millar. El total de investigadores de la carrera ascendió en los últimos 5 años de 1768 a 2376. Existe también una carrera para el personal técnico de apoyo a la investigación científica. La mayor parte de los fondos son aportados por el CONICET y las universidades, aunque es frecuente que en las becas externas se agreguen recursos provenientes de Fundaciones Extranjeras. Desde 1958 hasta la fecha el CONICET ha mantenido su continuidad como principal apoyo para el desarrollo y promoción de la Investigación Científica en la Argentina.

**A BIOLOGIA CELULAR NO BRASIL** (Cell Biology in Brazil). Da Sousa, V., Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Apenas em poucos cursos a Biologia Celular é ministrada como tal no Brasil. O mais comum é ela estar dispersa entre os cursos de Histologia, Biofísica, Bioquímica, Biologia Molecular e Genética, o que dificulta a análise detalhada da situação da Biologia Celular no Brasil. Na que pese a nossa situação estar longe do ideal observase nos últimos anos um aumento no número de grupos atuantes, no número e na qualidade dos trabalhos que vêm sendo realizados. O fato de terem existido alguns Programas Especiais organizados pelas agências de financiamento, fixaram com que certas áreas se destacassem. No que ocorre, por exemplo, na área da Biologia Celular de Parasitos, com ênfase principalmente em *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania* e *Schistosoma mansoni*. Tais parasitos têm sido utilizados interessadamente como modelos experimentais para estudos morfológicos, bioquímicos e imunológicos. O número de doutores formados tem sido insuficiente para atender as necessidades das instituições universitárias. Esforços estão sendo feitos para aumentar os programas de formação de recursos humanos visando atendimento das necessidades dos polos de biotecnologia em fase de implantação. Todas as atividades nesta área, tem sido apoiadas pela Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

PROGRAMAS DE POSTGRADO EN CHILE. AREA BIOLOGIA CELULAR. (Postgraduate Programs in Chile. Field of Cell Biology). L. Izquierdo. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los programas chilenos en Biología conducen al Magister o Doctorado en Ciencias Biológicas, en general sin especificación de la disciplina; por lo tanto no es fácil precisar el área de Biología Celular. Las cifras sobre número de graduados indicadas en la columna 1 se refieren al conjunto de Biología Celular, Biología del Desarrollo, Biología Molecular, Bioquímica, Biosférica y Fisiología; las cifras en columna 2 a Biología Celular exclusivamente.

La primera cifra es probablemente una sobreestimación, la segunda una subestimación y las conclusiones dependen de cuán restrictiva sea la definición de Biología Celular.

Universidad	Iniciación Programa	Graduados hasta 1988	1988	
			1	2
<b>MAGISTER</b>				
U. de Chile	Fac. Ciencias	1978	30	9
	Fac. Medicina	1983	32	4
	Fac. Q. y Farm	1985	3	-
U. Concepción		1978	14	-
U. Austral		1977	15	-
<b>DOCTORADO</b>				
U. de Chile	Fac. Ciencias	1966	42	1
	Fac. Q. y Farm	1985	4	1
P. U. Católica		1972	21	15

Se describe el desarrollo de los programas y se examina el destino de los graduados.

EL DESARROLLO DE LA BIOLOGIA CELULAR EN MEXICO (Development of Cell Biology in Mexico). Peña, A., Instituto de Fisiología Celular, UNAM, Apartado 70-600. México, D.F. México.

No sólo en el área de la Biología Celular, sino en la ciencia toda, México inició hace aproximadamente treinta años un esfuerzo que no ha sido constante, y que en los últimos años se ha vuelto más pequeño. Para intentar hacer una evaluación del estado de la Biología Celular en México, se tomó como base las cifras del Sistema Nacional de Investigadores, que representan la evaluación más formal de los investigadores mexicanos. Las cifras son difíciles de obtener, debido a que algunas áreas, como la Bioquímica y la Inmunología, representan en realidad una Biología Celular con ciertos enfoques de otro tipo. Prácticamente es más fácil hacer un análisis de este tipo en la Biología Experimental.

Las cifras muestran que para toda la Biología y la Medicina, completas, dan un total de 815 investigadores concentrados, en su gran mayoría en la ciudad de México, con sólo 49 en el nivel más alto. Para la Biología Celular se da una cifra de sólo 24 investigadores, pero muchos de otras áreas hacen en realidad Biología Celular. Tal vez una cifra aproximada sea alrededor de 50 investigadores en el área. En el área propiamente dicha de la Biología Celular hay sólo dos posgrados de buen nivel, que sin embargo, tienen una producción de egresados relativamente baja. En México no hay una Sociedad de Biología Celular, y los investigadores del área se asocian a las de Bioquímica e Inmunología principalmente.

Hay pues un grupo pequeño, pero sólido de Biólogos Celulares, agrupados alrededor de dos posgrados principalmente, que representan ya una base sólida para el desarrollo de esta disciplina.

APLICACIONES DE BIOLOGIA CELULAR EN BIOTECNOLOGIA (Cellular Biology and Biotechnology). Grau, O. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de la Plata.

La Biología Celular conjuntamente con la Bioquímica, la Biología Molecular y la Ingeniería Genética constituyen el basamento del incipiente desarrollo de actividades biotecnológicas. En latinoamérica ya existen ejemplos el empleo de técnicas modernas en salud humana y animal, en producción agropecuaria y en la industria. En el campo de la salud se utilizan anticuerpos monoclonales y proteínas clonadas para el diagnóstico de enfermedades humanas y animales y para la fijación antigénica, como así también sondas de DNA y RNA para la detección de bacterias y virus. Se emplea RFLP para detectar diversas patologías genéticas y para el establecimiento de consanguinidad. Mediante el cultivo de células eucariotas y de microorganismos se preparan vacunas virales y bacterianas. Las nuevas técnicas de fertilización in vitro y de división de embriones se están aplicando para resolver problemas de reproducción en humanos o para mejorar la calidad de animales productores de carnes. En producción agropecuaria se emplean inoculantes para favorecer la fijación de nitrógeno y el abastecimiento de minerales a las plantas. Se producen virus, bacterias e insectos que son empleados para combatir plagas. Se producen millones de plantas por micropropagación y se están iniciando las experiencias de transformación para obtener variedades resistentes a plagas y de mejor valor alimentario. Se emplean también sondas de DNA y RNA y anticuerpos monoclonales para diagnóstico de enfermedades y el RFLP para diferenciar variedades de cultivos. En el ámbito de la producción acuática se reproducen crustáceos en cautiverio para emplear las semillas en cultivos intensivos. En el campo alimentario se emplean enzimas saborizantes y enriquecedores producidos en cultivos o microorganismos modificados que permiten una mejor elaboración, conservación o aumentan la capacidad nutricional. En el campo industrial, en algunos países se han desarrollado programas de producción de combustibles por fermentación. Se está estudiando el mejor empleo de residuos agroindustriales mediante procesos biológicos y se emplean reactores con células o enzimas inmovilizadas para la producción de antibióticos y transformación de moléculas.

PERSPECTIVAS FUTURAS DE LA APLICACION DEL CONOCIMIENTO BASICO DE BIOLOGIA CELULAR EN BIOTECNOLOGIA EN IBEROAMERICA. (The potential biotechnological applications of basic cell biology knowledge in Iberoamerica).

Pablo Valenzuela. Chiron Corporation, Emeryville, California, USA y Bios-Chile IGSA, Santiago, Chile.

La gran mayoría de nuestros países iberoamericanos se caracterizan por la ausencia de un apoyo político prioritario a la ciencia y la tecnología. Somos exportadores de científicos y técnicos altamente especializados e importadores de tecnologías y de los productos derivados de ella. La biotecnología parece seguir el mismo camino. Esta presentación tratará sobre algunas de las causas y algunos remedios que, con el debido apoyo político, podrían ayudarnos a superar este destino. Entre los factores a analizar están: Planes nacionales, capitales e incentivos, apoyo a y rol de las universidades, áreas y productos, incorporación de tecnologías, convenios de manufactura y comercialización.

## SIMPOSIO SINGER SYMPOSIUM

Coordinador: Juan Fernández

SINGER SYMPOSIUM. Juan Fernández, Coordinator (Faculty of Science, University of Chile, Santiago, CHILE).

1. Welcome speech, short biography and achievements of Dr. Marcus Singer.
2. Role of the cytoskeleton in early embryonic development. R. Maccioni will discuss the stabilization of the microtubule cytoskeleton by transglutaminase, during the early mammalian development and neuroblastoma differentiation. J. Fernández will present evidence that organelle translocation during ooplasmic segregation in leech eggs relies on organizational changes of the meiotic and interphase cytoskeletons.
3. Control of the organization and degradation rates of acetylcholine receptors. M. Salpeter will show that the degradation rates of acetylcholine receptors are modified in denervated and reinnervated mouse muscle. N. Inestrosa, on the other hand, will provide evidence that heparan sulfate proteoglycans appear to play an important role as organizers of the cholinergic synapse.
4. Role of neurotrophism and expression of oncogenes in developing peripheral structures. J. Mc Credie will analyze the effect of sensory neurotoxic agents on embryogenesis and the significance of neurotrophism in modern medicine. Finally, J. Géraudie will provide evidence that transcription of the oncogene c-myc may be turned on and off in cells of amphibia forelimb regenerates.
5. Concluding remarks and medals ceremony.

**TRANSGLUTAMINASE IN EARLY DEVELOPMENT AND CELL DIFFERENTIATION** (Transglutaminasas en el desarrollo temprano y la diferenciación celular) Maccioni, R.B. International Center for Cancer and Developmental Biology (ICC), Santiago, Chile.

The morphological changes of the embryo during early development are related to processes of intracellular reorganization of blastomers and cell-to-cell interactions. The cytoskeleton, implicated in maintenance of cellular shape provide the framework required for these processes in early embryos. Transglutaminase (TG), an enzyme that catalyze acyl transfer reactions producing crosslinking between proteins or covalent modifications by polyamines appears to play critical modulatory roles in preimplantational mouse embryogenesis and differentiation of neuroblastoma cells. The specific TG activity in the soluble cellular fractions increases 2-fold from 2-cell embryos to 8-cell morulae and 4-fold from 2-cell embryos to blastocysts. The same developmental profile was seen when either N,N'-dimethylcasein or endogenous substrates were used in the TG assay. Major acyl donor components were tubulin and a high molecular weight crosslinkage products. A pronounced increase in TG was also observed during morphological differentiation of neuroblastoma. TG does not reach maximal levels until extensive neurite formation has occurred. Using putrescine as acyl acceptor, endogenous acyl donors in neuroblastoma included proteins that co-migrated on SDS-PAGE with tubulin and actin. TG may mediate covalent crosslinking of microtubules to other cellular components. These studies indicate that TG is directly implicated in the cytoarchitectural changes mediated by stabilization of the microtubule cytoskeleton during early embryogenesis and neuroblastoma differentiation. (Supported by Council for Tobacco Research, USA, NATO and ADRDA)

**DYNAMICS OF THE CHOLINERGIC SYNAPSE**. N.C. Inestrosa, Molecular Neurobiology Unit, Department of Cell Biology, Faculty of Biological Sciences, Catholic University of Chile, P.O. Box 114-D, Santiago-CHILE.

The neuromuscular junction correspond to a small fraction (0.01%) of the muscle surface. At the junction, both the nerve terminal and the muscle surface are differentiated. In particular, the muscle presents synaptic macromolecules including, the acetylcholinesterase (AChE), the acetylcholine receptors (AChR) and heparan sulfate proteoglycans. The relationship between these macromolecules have been studied in genetic variants of muscle cells, defective in radioactive sulfate incorporation. These variants express normal levels of AChR on their surface, but the myotubes did not present clustered AChRs nor asymmetric AChE (as in wildtype myotubes), however, when these cells were co-cultivated with spinal cord explants the clustering defect was eliminated.

Besides the co-localization and specific interaction between HSPG, and AChR and AChE, these PGs also interacts with other component of the ECM, therefore because of its multiple specific interaction and well defined localization, it is possible to suggest that the HSPG acts as the "organizer of the cholinergic synapse". Studies in other systems have demonstrated that PGs are implicated in the assembly and deposition of ECM components. Hence, the accumulation of ECM-PGs may contribute to the establishment of a normal nerve-muscle contact and to participate in the anchoring of synaptic components.

**ORGANIZATION OF THE CYTOSKELETON AND OOPASMIC SEGREGATION IN THE LEECH UNCLEAVED EGG**. (Organización del citoesqueleto y segregación ooplásmica en el huevo indiviso de sanguijuela). J. Fernández, Department of Biology, Faculty of Science, University of Chile, Santiago, Chile.

Dramatic structural changes take place in the leech egg before initiation of the first cleavage division. Some of these changes are related to the establishment of polar cytoplasmic domains (teloplasms), which are later utilized in the manufacture of ectodermal and mesodermal founder cells. Teloplasms form by ooplasmic segregation, process that involves orderly translocation of numerous organelles across the egg surface. The role played by the cytoskeleton in this process has been studied by immunofluorescence, drug treatment, scanning and electron microscopy and scanning laser microscopy (confocal).

Ooplasmic segregation seems to be accomplished in two steps. Step I occurs by the end of the first meiotic division, when contraction of an actin lattice provokes discharge of the first pole cell and ooplasm accumulation at the top of the animal hemisphere. Step II occurs during the second half of the first interphase, when contraction of an actin network and rearrangement and shortening of microtubules lead to ooplasm concentration at the animal and vegetal poles. Step II ooplasmic segregation is thus bipolar, and appears to take place along certain microtubules put together into meridional columns by an earlier episode of actin contraction.

Results indicate that the organization and properties of the meiotic and interphase cytoskeletons allow differentiation of the leech uncleaved egg along its animal/vegetal axis (Supported by grant 89-1128 from Fondo Nacional de Investigación Científica y Tecnológica).

NEUROTROPHISM AND CONGENITAL MALFORMATIONS (Neurotrofismo y malformaciones congénitas). J. McCredie. Department of Surgery. The University of Sydney. Sydney. Australia.

The role of sensory nerves in embryological development has been overlooked for too long. Electron microscopy has established the presence of nerves in embryonic limb buds, previously thought to be nerveless. Sensory neurotoxic agents such as thalidomide produce malformations in the distribution of dermatomes, myotomes and sclerotomes. The nature of transmission of the neurotrophic message, a biological secret, is of great potential importance to medical science. Examples of the medical application of sensory neurotrophism will be presented.

Degradation of Junctional Acetylcholine Receptors. Salpeter, M.M. and Shyng, S.L. Neurobiology & Behavior, Cornell University, Ithaca, New York.

Studies of the degradation rate of acetylcholine receptors (AChR) have identified two populations of junctional AChR at the neuromuscular junction (nmj) of mouse sternomastoid muscle. The first, (called original or slow AChR's), are present at the innervated junction, have a degradation half life ( $t_{1/2}$ ) of about 8 to 10 days and accelerate after denervation to a  $t_{1/2}$  of about 3 days. The second, (called new or fast AChR) are inserted at the nmj after denervation and have a  $t_{1/2}$  of approximately 1 day at all times after denervation. Reinnervation has a different effect on the degradation rate of these two classes of junctional receptors. Reinnervation causes the accelerated degradation rate of the low AChR already in the membrane to revert to the  $t_{1/2}$  of 8 d, characteristic of the innervated AChR's. However reinnervation causes no change in the  $t_{1/2}$  of the fast (1 d) AChR's once they are in the post-synaptic membrane. These results suggest that structural differences, dependent on the state of innervation at the time of synthesis, may determine both the inherent degradation of the junctional AChR's and whether that rate can be modified by reinnervation after the AChR is in the plasma membrane. The possible nature of the neural control will be discussed.

ONCOGENE C-MYC EXPRESSION DURING BLASTEMA FORMATION OF FORELIMB REGENERATE IN THE FROGLET, *Xenopus laevis*. (Expresión del oncogen C-MYC durante la formación del blastema de regeneración del miembro anterior de *Xenopus laevis*). J. Géraudie, J. Hourdry, S. Vríz, M. Singer and M. Mechali. Laboratoire d'Anatomie comparée Université Paris VII, Laboratoire d'Embryologie moléculaire, Institute Jacques Monod, Paris and Department of Anatomy, School of Medicine, Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio, U.S.A.

Analysis of c-myc expression has been carried out in the forelimb regenerate of the albinos froglets *Xenopus laevis*. Northern blots analysis has shown c-myc expression especially in the regenerate when compared to stump tissues. *In situ* hybridization confirmed and emphasized at the level of the tissue the results obtained above. Grain densities were observed in the wound epidermis while the superficial ones were label free. Labelling of the mesenchymal cells of the blastema was evenly distributed. The observations suggest that transcription of c-myc maintains the cells in the cell cycle and is turned off, in the epidermis of the limb of *Xenopus*, when cells are already highly differentiated in keratinocytes and susceptible to sloughing.

## SIMPOSIO PAABS. RESPUESTAS MOLECULARES DE LOS ORGANISMOS FRENTE A ESTIMULOS EXTRACELULARES

En homenaje a Alberto Sols García (Q.E.P.D.)

Coordinador: *Alejandro Venegas*

Simposio "Respuestas Moleculares de los organismos frente a estímulos extracelulares". Coordinador: Dr. A. Venegas, P. Universidad Católica de Chile.

El simposio se enfoca sobre el efecto de diversos estímulos externos, como cambios de osmolaridad, temperatura, pH y luz, en la respuesta adaptativa tanto de organismos procarióticos como eucarióticos y los mecanismos involucrados.

Del análisis de diversos modelos biológicos descritos en este simposio, se visualiza una cadena de eventos, siguiendo el flujo: señal → transductor → mensajero → modulación de la expresión génica → respuesta final.

Así, incorporando en microorganismos genes ya caracterizados, se analiza la respuesta por variaciones de osmolaridad y temperatura, (expresión de genes de porinas de *S. typhi*).

Como modelo de transductor se discuten la estructura y la equivalencia funcional del complejo adenilato ciclasa en hongos y protozoos.

En relación a la naturaleza de la respuesta, se presentan estudios comparativos frente a "stress" térmico y de bajo pH, en diversos organismos lixiviantes, los que sugieren que la respuesta a nivel proteico es semejante.

La evolución a preservado también la estructura de los genes representativos de la respuesta, así como la interacción de sus productos entre diversas especies (similitud de genes *dnak* y *hsp70* de *C. crescentus* y *Drosophila*; similitud y equivalencia funcional entre adenilato ciclasas y entre proteínas G y Ras de diversas especies).

Finalmente, esta serie de eventos que consolidan la respuesta frente al estímulo, son más complejos en eucariotes, ya que involucran interrelaciones y supeditan la expresión génica a otros procesos (reprogramación de la expresión génica en el proceso de aclimatación de la carpa).

En resumen, las diferentes señales que gatillan las diversas respuestas, utilizan mecanismos transductores semejantes, generan productos similares para respuestas adaptativas relacionadas y modulan armónicamente la expresión génica de varios procesos. Así se mantiene una respuesta adaptativa que asegura la supervivencia del individuo frente a cambios del medio.

CONSTRUCCION DE MINIGENES DERIVADOS DEL GEN *ompC* DE *Salmonella typhi* Y ESTUDIOS SOBRE EL CONTROL DE LA EXPRESION EN *E. coli*. (Construction of minigenes derived from the *Salmonella typhi ompC* gene and studies on expression in *E. coli*). Venegas, A., Alvarez, A., Gómez, L., Martínez, M., Lira, P., Hinrichsen, J.P. y Zoror, I. Unidad de Microbiología y Genética Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile.

Entre las proteínas de la membrana externa de las bacterias gram negativas están las llamadas porinas, capaces de formar poros que permiten el paso de solutos pequeños. En *Salmonella typhi*, agente causal de la fiebre tifoidea, se han detectado dos porinas *OmpC* (36 kDa) y *OmpF* (35 kDa).

El gen de la porina *OmpC* de *S. typhi* ha sido clonado y secuenciado previamente por nosotros. El objetivo de este trabajo es subclonar y expresar secuencias de esta porina que sean características de ella, y que al mismo tiempo correspondan a zonas expuestas al exterior, es decir, epítopos específicos de *S. typhi*.

Analizando la secuencia del gen *ompC* de *S. typhi* y comparándola con su señal de *E. coli*, se encuentra una homología de 74%. Sin embargo, a pesar de esta alta homología, es posible encontrar dos zonas en la secuencia aminoacídica que no se encuentran en la porina de *E. coli*, y que según modelos de plegamiento de la proteína en la membrana, serían zonas expuestas. Estas dos zonas están comprendidas entre los aminoácidos 160-167 y 252-259. Ambas están contenidas en un fragmento de restricción *PvuII* y *PstI* del gen *ompC*, que corresponde a la zona entre los aminoácidos 50 a 258.

Del clon pSTPEV (plásmido con gen *ompC* de *S. typhi* completo, clonado en el sitio *EcoRV* de pBR329), se obtuvo el fragmento *PvuII/PstI*, el cual fue clonado en el vector de expresión pHisopA. Con este tipo de construcción se obtiene una proteína híbrida que posee en el extremo amino terminal el péptido señal de *OmpA* (lo que hace que ella atraviese la barrera de la membrana plasmática), más 10 aminoácidos correspondientes a la secuencia "linker" usada en la construcción, y es el carboxilo terminal, 7 aminoácidos extras. Este vector consta además, de los promotores en tandem, *lpp* y *lac*, lo que permite una alta expresión y a su vez, regulable mediante el inductor de *lac*, IPTG. El clon obtenido (pSTPM), expresa una proteína de aproximadamente 27kDa que no existe en *E. coli* y que es reconocida por anticuerpos anti *OmpC* de *S. typhi* y al parecer se incorpora en la membrana externa. Otro antígeno obtenido (pSTPK2) carece de los 9 primeros aminoácidos y de los últimos 109 del extremo carboxilo terminal. Se presentan estudios comparativos de regulación de la expresión por osmolaridad, concentración de glucosa y temperatura, con respecto al gen completo.

Este trabajo fue financiado por el proyecto FONDECYT 2026/87.

RESPUESTA ADAPTATIVA DE LA EXPRESION GENICA DE LAS BACTERIAS FRENTE AL STRESS TERMICO Y DE pH. (Adaptative response of bacterial genetic expression towards thermal and pH stress). Alvarez, S., Toledo, H., Varela, F., Chamorro, D., Peirano, I. y Jerez, C.A. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Cuando los organismos se someten a un cambio brusco de temperatura por un corto tiempo (shock térmico), responden inhibiendo la síntesis global de las proteínas, induciendo simultáneamente la síntesis de un grupo de proteínas conocidas como proteínas del shock térmico o HSPs. En las faenas de biolixiviación de minerales las temperaturas pueden variar entre 0°C y 50°C o más. Estudiamos la respuesta a los cambios de temperatura de las bacterias mesofílicas *Thiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* (de 30°C a 40°C), la cepa termofílica moderada LM2 (de 50°C a 60°C) y la arqueobacteria termofílica *Sulfolobus acidocaldarius* (de 70°C a 85°C). Las bacterias se criaron en presencia de  $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3$  y los productos radiactivos se analizaron por electroforesis en geles de poliacrilamida y fluorografía.

Todos los microorganismos mostraron una respuesta típica al shock térmico. Por otro lado, *T. ferrooxidans* no mostró respuesta a un shock frío (30°C a 10°C). Sin embargo, esta bacteria adquiere termotolerancia frente a un shock letal de 50°C cuando se la somete a un shock previo a 40°C.

Frente a un cambio de pH (3.5 a 1.5) y en presencia de etanol (4%), el *T. ferrooxidans* mostró una respuesta muy similar al shock térmico, induciendo aparentemente las mismas proteínas. Estos resultados indican una posible interrelación entre estas respuestas a diferentes tipos de stress.

Financiado por Proyectos FONDECYT 88-0074, PNUD/UNESCO CHI/ 88-003 y Universidad de Chile.

O GENE DE CHOQUE TÉRMICO *dnak* É REGULADO PELO DESENVOLVIMENTO EM *Caulobacter crescentus*.

(Heat shock gene *dnak* is developmentally regulated in *Caulobacter crescentus*. Gomes, S.L. & Shapiro, L. Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade de São Paulo & Department of Developmental Biology, Stanford University School of Medicine.

O gene de choque térmico *dnak* de *Caulobacter* foi isolado utilizando-se como sonda o gene *hsp70* de *Drosophila*. O fragmento *Bam* HI de 3,5kb clonado foi sequenciado e mostrou conter dois quadros abertos de leitura. O primeiro codifica uma proteína 66% idêntica a *DnaK* de *E. coli* e 54% idêntica à *Hsp70* de *Drosophila*. A sequência de aminoácidos deduzida do outro quadro aberto de leitura, que não termina dentro do clone, mostrou 59% de identidade com outra proteína de choque térmico de *E. coli*, a proteína *DnaJ*. Análise em "Northern blots" do RNA de células submetidas ou não a choque térmico, demonstrou a presença de um transcrito de 4.0kb, indicando que *dnak* e *dnaJ* formam um operon. Ensaio de proteção com nuclease S1 e experimentos de extensão de "primer" indicaram que a transcrição se inicia em dois pontos diferentes, a 5' do gene *dnak*. Um único início de transcrição foi identificado durante o choque térmico. A temperaturas normais um outro início de transcrição foi determinado que mostrou ser regulado pelo ciclo celular. Ensaio de proteção com S1 assim como ensaio com gene *dnak* fundido com os genes reporteres de transcrição *neo* e *lux* mostraram que a expressão do gene *dnak* ocorre imediatamente antes da iniciação da replicação do DNA em *Caulobacter*.

EL SISTEMA ADENILATO CICLASA Y LA TRANSDUCCION DE SEÑALES EN EUKARIOTES INFERIORES Y PLANTAS (Adenylate cyclase system and the signal transduction in lower eucaryotic and plants) M.M.Flawiá; J.Muschietti; H.Martinetto; D.Altshuler y H.N.Torres) Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Exactas-Universidad de Buenos Aires, Argentina.

La regulación hormonal del sistema Adenilato ciclasa (AC) es el resultado de la interacción de tres entidades proteicas: Receptor hormonal (R); proteínas reguladoras que unen GTP (Gs, Gi) y subunidad catalítica (C). El hongo ascomicete *Neurospora crassa* posee solamente el componente C que puede interaccionar, en reconstituciones heterólogas, con el componente Gs y el receptor para el glucagón o  $\beta$  adrenérgico. La enzima, en presencia de ATP-Mg<sup>2+</sup> como sustrato, es estimulada por hormonas, GTP, toxina del cólera, etc. Se clonaron y secuenciaron genes del tipo ras en *Neurospora*, cuyo papel regulatorio está aún en estudio.

La AC de *Trypanosoma cruzi* es similar, en cuanto a su comportamiento bioquímico, a la de *Neurospora* pero se encuentra asociada a una proteína del tipo Gs de PM 52000, que se ADP ribosila en presencia de toxinas bacterianas.

El componente C de ambos organismos puede interaccionar con el sistema rodopsina-transducina de membranas de retina bovina donde la luz, actuando como hormona, permite la producción de AMP cíclico en los sistemas fusionados. La mayor actividad enzimática corresponde a la longitud de onda de la rodopsina fotolizada.

Otro sistema importante de transducción de señales ambientales es el relacionado a fotoseñales y sus respectivos sensores: los fitocromos. Relacionado a este segundo tipo de mecanismo se caracterizó una proteína que une GTP en *M. sativa*. Por el gráfico de Scatchard se determinó un Kd de 8m. Esta interacción se correlaciona con variaciones en los niveles de fitocromos (luz roja 660nm, roja lejana 730nm, oscuridad, etc.). A partir de un extracto de membranas se purificó parcialmente la proteína a través de DEAE celulosa y Ultrogel ACA34. La fracción que une GTP coincide con un PM de 48000. En presencia de NAD, las toxinas de *V. cholerae* y *B. pertussis*, inhiben la unión específica del GTP, indicando un bloqueo en el sitio de unión o de disociación, producido por la ADP ribosilación, similar a lo que ocurre con las proteínas Gi en eucariotes superiores.

ASPECTOS MOLECULARES DE LA RESPUESTA COMPENSATORIA EN LA CARPA FRENTE A VARIACIONES DE TEMPERATURA. (Molecular aspects of the compensatory response to temperature changes in the carp). Krauskopf, M., Amthauer, E., Concha, M., Hernández, L., Inostroza, J., León, G., Romero, E., Yeká, M.I. y Villanueva, J. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Los organismos ectotermos son capaces de mantener sus funciones esenciales cuando son sometidos a variaciones térmicas estacionales. Nuestro grupo ha postulado que un mecanismo fundamental en la estrategia de la respuesta compensatoria lo constituye la reprogramación de la expresión génica.

Estudios ultraestructurales del hígado de la carpa han revelado profundos cambios a nivel citoplasmático y nuclear asociados al proceso de aclimatación. Consistente con estas observaciones, se ha encontrado que en carpas adaptadas a invierno, la síntesis de RNA está reprimida y la de proteínas totales disminuida esencialmente por efecto de la temperatura. Sin embargo, el patrón de proteínas sintetizadas por el hepatocito, es diferente en ambas estaciones. La síntesis de apolipoproteína A-I, utilizada como marcador de expresión durante aclimatación, se encuentra aumentada en carpas adaptadas a invierno con respecto a lo esperado por efecto del Q<sub>10</sub>. Se ha construido una biblioteca de cDNA de hígado de carpa en  $\lambda$ mbda-gt11 para aislar una sonda que permita estudiar la transcripción de apo A-I.

Paralelamente hemos investigado la inducción de vitelogenina por  $\beta$ -estradiol en carpas machos durante aclimatación. Los resultados demuestran que existe una respuesta diferencial a la hormona que depende de la temperatura de aclimatación del pez.

Proyectos FONDECYT 0933/88, DIC-UACH 8-86-29 y programa de graduados OEA.

## SIMPOSIO TRANSPORTE DE IONES Y SU REGULACION EN ENFERMEDADES HUMANAS

Coordinadores: M. Isabel Behrens, Cecilia Vergara, Daniel Wolff

### SIMPOSIO

#### TRANSPORTE DE IONES Y SU REGULACION EN ENFERMEDADES HUMANAS.

##### Introducción.

En este simposio tendremos una visión actual de los mecanismos involucrados en cinco patologías hereditarias importantes, tanto por la incidencia que tienen en la población general (diabetes, hipertensión), como por los efectos dramáticos que producen en los individuos afectados (distrofias musculares, hipertensión maligna, fibrosis quística).

El común denominador de estas patologías parece ser un defecto en una población de membrana que, en los casos en que su función ha sido identificada, es además un sistema de transporte de iones (canal o transportador).

El Dr. Eric Hoffman nos presentará el elegante trabajo del grupo del Children's Hospital de Boston que llevó a la identificación del gen defectuoso en la distrofia muscular de tipo Duchenne/Becker y de su producto, la distrofina, una proteína cuya secuencia se conoce pero cuya función es todavía una incógnita. Los trabajos presentados por los Drs. Jaimovich y cols., López, Wolff y Stutzin, Canessa y Atwater y cols. se centran en la fisiología celular en sistemas modelo y, al menos en los 4 últimos, en la identificación de el canal o transportador deficitario o alterado.

Todos estos trabajos son una muestra de la importancia del uso de diversas técnicas de biología celular, electrofisiología, biofísica de transporte, genética y biología molecular en lo que constituye una verdadera explosión en el conocimiento de los mecanismos moleculares de las patologías hereditarias humanas.

CANALES DE CLORURO EN EPITELIOS SECRETORES: ALTERACIONES EN LA FIBROSIS QUISTICA. (Chloride channels in secretory epithelia: alterations in cystic fibrosis). Wolff, D. y Stutzin, A. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias y Departamento de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En las células de los epitelios secretores, la salida de Cl<sup>-</sup> se hace a través de canales aniónicos que presentan estimulación  $\beta$  adrenérgica y están ubicados en la membrana apical. En la fibrosis quística (FQ) se observa una impermeabilidad de la membrana al Cl<sup>-</sup>, que se ha atribuido a una falla en la activación  $\beta$  adrenérgica de los canales de Cl<sup>-</sup>. En estudios de flujos de salida de <sup>36</sup>Cl en células de polipos nasales en cultivo de sujetos normales y con FQ hemos encontrado que el dibutilil cAMP y la toxina del cólera estimulan el flujo conductivo en las primeras pero no en las segundas. Usando la técnica de patch clamp, Frizzell y cols. y Welsh y cols., han encontrado canales de Cl<sup>-</sup> en epitelio traqueal de perro que se activan por agonistas  $\beta$  adrenérgicos y por el potencial. Canales semejantes también se encuentran en epitelios secretores humanos y se activan en células de sujetos normales pero no en pacientes con FQ. Al registrar la actividad de canales en pedazos aislados de membranas celulares de epitelio traqueal, los canales de Cl<sup>-</sup> de paciente con FQ no se activan al agregar directamente proteína quinasa A, lo que se ha atribuido a una falla en un sitio de regulación de la proteína-canal. Sin embargo, experimentos preliminares realizados en nuestro laboratorio usando la técnica de patch clamp en células en cultivo de páncreas de paciente con FQ muestran que hay actividad de canales de Cl<sup>-</sup>, lo que podría indicar que en estas células epiteliales se expresa una variedad de canales de Cl<sup>-</sup> con diferentes vías de regulación.

Financiado por los proyectos FONDECYT 0448-88 y Cystic Fibrosis Foundation I078 9-01.

REGULACION DEL CONTRATRANSPORTE DE  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  EN LA HIPERTENSION ESENCIAL. (Regulation of the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger in essential hypertension). Mitzzy Canessa. Department of Medicine, Harvard Medical School, Boston, Ma, USA

Ten years ago, we initiated studies of the genetic variation of  $\text{Na}^+$  transport systems in the human population as an approach to the genetics of hypertension. Two of these biochemical phenotypes, the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange and the  $\text{Na-K-Cl}$  cotransport are found abnormal in red cells of a sizable proportion of the essential hypertensive population. Both transport systems are altered in families of hypertensive patients, in the genetic rat models of hypertension and expressed in target tissues such as renal tubular epithelium, vascular smooth muscle and adrenal glomerulosa cells. In these cells, the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger is modulated by vasoconstrictor agonists such as Angiotensin II and growth factors such as BGF and PDGF which mobilize  $\text{Ca}^{++}$ .

In human red cells and lymphocytes of hypertensive patients, the antiporter exhibit elevated  $V_{\text{max}}$  and reduced Hill coefficient for activation by cell pH. The abnormal regulation of the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger may lead to: (a) increased vascular reactivity, because it potentiates vasoconstrictor effects and favors vascular hyperplasia; (b) abnormal  $\text{Na}^+$  reabsorption in the early proximal tubule modulated by Angiotensin II; and (c) abnormal aldosterone secretion because it modulates the Ang II-stimulated pathway.

These abnormalities might be associated to post-translational modifications such as  $\text{Ca}^{++}$  dependent phosphorylation or by genetic variation in the antiporter gene as defined by RFLP analysis.

DUCHENNE vs. BECKER MUSCULAR DYSTROPHY. DEFICIENCIES vs. ABNORMALITIES OF A PERIPHERAL MEMBRANE CYTOSKELETAL PROTEIN. Eric P. Hoffman, Alan H. Beggs and Louis M. Kunkel, Division of Genetics, Children's Hospital, Pediatrics, Harvard Medical School, Boston, MA USA.

The lethal and common human Duchenne muscular dystrophy is caused by the absence of 'dystrophin', a component of the membrane cytoskeleton in muscle cells of all vertebrates. The milder Becker muscular dystrophy is caused by internal deletions of amino acid sequence of the dystrophin protein. Using powerful molecular genetic techniques and the international medical network, we have identified a large number of Becker muscular dystrophy patients, and have defined the precise amino acid sequences which are missing from the 3,600 amino acid dystrophin. By correlating biochemical data, genetic data, and clinical data for these patients, a structure/function map of the dystrophin protein is beginning to be assembled. Such analyses give a great deal of insight into the normal function of dystrophin on the plasma membrane, and also shed light on the consequences of its absence (Duchenne) or abnormalities (Becker) in human disease.

Other recent work in Duchenne/Becker dystrophy has focused on the identification of true animal models for the disease. Dystrophin-deficient mice, cats and dogs have all been identified, and all have striking similarities and dissimilarities. The study of these animals is telling us a great deal about the reasons for the progression of human Duchenne dystrophy. Finally, much progress has been made concerning improved diagnosis of these disorders in humans. Both prenatal and post-natal diagnoses can now often be made with 100% accuracy, even before the onset of clinical symptoms.

In conclusion, human molecular genetics was responsible for the identification of dystrophin, and will probably continue to play an important role in the determination of dystrophin function.

MUSCULO ESQUELETICO HUMANO EN CULTIVO. UNA APROXIMACION AL ESTUDIO DE DISTROFIAS MUSCULARES. (Human skeletal muscle in culture. An approach to the study of muscular dystrophy). Jaimovich, E., Liberona, J.L., Tascón, S., Hidalgo, J., Cifuentes, F., Carrasco, M.A., Sánchez, X., y Cavedes, R. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las distrofias musculares constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades hereditarias que se caracterizan por una debilidad muscular progresiva, producto de defectos bioquímicos intrínsecos del tejido muscular. La más común de estas enfermedades es la distrofia tipo Duchenne, en donde el gen defectuoso ha sido identificado y su producto, la distrofina, es una proteína de membrana cuya función se desconoce (Hoffman y cols. Cell 51, 919, 1987). Este defecto puede estar relacionado con los procesos de excitación y contracción muscular.

Nuestra aproximación al problema consiste en generar líneas celulares humanas en cultivos permanentes a partir de biopsias quirúrgicas de músculo esquelético normal y de pacientes con distrofia muscular Duchenne.

Las células fueron transformadas por incubación con medios condicionados de células tiroideas y se establecieron numerosos clones que crecen en forma indefinida. Además de los marcadores habituales de músculo esquelético como miosina y creatinfosfoquinasa, hemos estudiado sistemas importantes en los procesos de excitación y contracción muscular, que incluyen receptores a dihidropiridinas y alfa bungarotoxina, canales iónicos sensibles a acetilcolina y el metabolismo de fosfatidil inositol e inositol fosfato. Los estudios preliminares apuntan a las variaciones en estos parámetros con la diferenciación celular y con condiciones de potencial de membrana que simulan estímulos fisiológicos para el músculo.

Financiado por NIH GM35981, MDA, FONDECYT 896 y 1360 y DYT 2123.

EFFECTO DEL HALOTANO Y DEL DANTROLENO SOBRE LA LIBERACION DE CALCIO EN FRAGMENTOS DE RETICULO SARCOPLASMICO DE PORCINOS SUSCEPTIBLES A HIPERTERMIA<sub>2</sub> MALIGNA. (Effects of halothane and dantrolene on  $\text{Ca}^{++}$  release from sarcoplasmic reticulum fraction in susceptible swine to malignant hyperthermia). López, J. R. y Sánchez, V. Centro de Biofísica y Bioquímica, IVIC, Caracas, Venezuela.

La hipotermia maligna (HM) es un síndrome farmacogenético del músculo esquelético, que se observa en humanos o porcinos susceptibles cuando estos son expuestos a agentes anestésicos volátiles tipo halotano y/o relajantes musculares despolarizantes tipo succinilcolina. Hemos estudiado el efecto del halotano y del dantroleno sobre el proceso de liberación de calcio por parte del retículo sarcoplásmico (RS).

La fracción cruda de RS fue preparada según método descrito previamente (Sánchez et al., Muscle Nerve en prensa), de músculos provenientes de porcinos controles (PC) e hipertérmicos (PH). Los experimentos fueron realizados a 25°C, usando Arsenazo III como indicador de calcio.

En la presencia de 400  $\mu\text{M}$  de halotano la liberación de calcio siempre fue superior en las vesículas de PH que en aquellas obtenidas de PC independientemente de la precarga de calcio. Cuando la concentración de halotano se incrementó de 0 hasta 170  $\mu\text{M}$ , el valor umbral del fenómeno de liberación de calcio inducida por halotano en las vesículas de RS de PH fue menor que el valor observado en los PC. La presencia de 30  $\mu\text{M}$  de dantroleno produjo una inhibición total del fenómeno de la liberación de calcio inducida por halotano. Estos resultados demuestran que en las fibras musculares HM existen alteraciones importantes a nivel del RS en relación al proceso de liberación de calcio. Además se demuestra el efecto del dantroleno, lo cual podría explicar su eficacia en el manejo preventivo y curativo de las crisis de HM. (Proyecto financiado por MDA y CONICIT de Venezuela S1-1277).

LA SECRECIÓN DE INSULINA SENSIBLE A GLUCOSA EN ISLOTES DE LANGERHANS DE RATON ES INDEPENDIENTE DEL POTENCIAL DE MEMBRANA. (Glucose sensitive insulin secretion is independent of membrane potential in mouse islets of Langerhans). Atwater, L., Brouwer, A. y Carroll, P.B. LCBG, NIDDK, NIH, USA.

Generalmente se acepta que el metabolismo de la glucosa bloquea los canales de  $K^+$ , lo cual depolariza la membrana, activa canales de  $Ca^{2+}$  dependientes del voltaje y desencadena la liberación de insulina. Intentamos estudiar la secreción de insulina sensible a glucosa en la condición de un potencial de membrana ( $V_m$ ) depolarizante y constante (25 mM KCl) y compararla con la situación en la que la glucosa depolariza (5 mM KCl). El estudio fue realizado en islotes disecados y periperfundidos. En la fase aguda, fueron expuestos por 10 minutos a cambios escalonados de la glucosa desde 5.6 a 33 mM. La liberación secundaria se estudió exponiendo los islotes a glucosa 27 mM por una hora. RESULTADOS: 25 mM KCl aumentó significativamente la secreción basal (con respecto a 5 mM):  $220 \pm 21$  vs  $326 \pm 21$  pg/min/6 islotes ( $p < 0.05$ ). La fase aguda de secreción fue normal. La fase secundaria también fue sensible a glucosa. Además, al fijar  $V_m$  bloqueando los canales de  $K^+$  sensibles a ATP con glyburida o tolbutamida, nuevamente se obtuvo secreción glucosa-dependiente. CONCLUSIONES: El efecto depolarizante de la glucosa en la membrana no regula la secreción de insulina glucosa-dependiente. Los datos son compatibles con la activación de canales de  $Ca^{2+}$  por la glucosa vía un mecanismo independiente del voltaje.

## SIMPOSIO METODOS MOLECULARES Y CLADISTICOS EN LA BIOGEOGRAFIA Y SISTEMATICA

Coordinadora: *Mary Kalin*

SIMBIOSIS Y DIFERENCIACION EN LA CELULA EUKARIONTE. (Symbiosis and differentiation in the eucaryotic cell). Medina, C. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Se postula que la diferenciación celular en eucariontes es una posibilidad creada por la historia evolutiva que originó a los eucariontes unicelulares. Esta historia consistió en una serie de asociaciones entre distintos procariontes, los que se fueron constituyendo en simbioses de un mosaico evolutivo. La diferenciación celular sería una segregación de la expresión de las diversas herencias que dieron origen al protista ancestral.

Para fundamentar esta interpretación, se realizaron comparaciones ortólogas entre estructuras primarias de proteínas pro y eucariontes, construyéndose cladogramas en los cuales la posición de ambos grupos y la distancia relativa que los separa indican el linaje de origen de los componentes eucariontes. Establecido este origen, se observa que las proteínas eucariontes de filiación común con frecuencia muestran relación en sus patrones de expresión, en concordancia con la hipótesis propuesta.

PARALELISMO POR HETEROCRONIA EN LA SISTEMATICA DE LOS CRICETIDOS SUDAMERICANOS (Parallelism through heterochrony in the systematics of South American cricetids). Spotorno, A. Departamento Biología Celular y Genética, F. de Medicina, U. de Chile.

La concordancia entre dos "arquetipos morfológicos" (simple y complejo), su distribución (Norte y Sur) y el intercambio faunístico pliocénico ha sido la base para la separación de los cricétidos del Nuevo Mundo en las subfamilias Neotominae y Sigmodontinae. La ocurrencia de excepciones sudamericanas (*Nyctomys*, *Abrothrix* y *Punomys*) sugiere que la morfológica, por ser epigenética, no siempre es un buen estimador de los componentes cladísticos y temporales de la filogenia, en contraste con los métodos moleculares.

Los análisis de electroforesis de proteínas (30 loci) en 19 especies permitió definir a los taxa sudamericanos por tres alelos únicos, separados de los norteamericanos por 1.1 D Nel ( $r^2 = .61$  con datos de hibridización de DNA), sugiriendo tiempos miocénicos y clados compatibles con el registro fósil. La red Prim de similitudes de Gower colocó a *Andinomys* en la base de la radiación akodontina-filotina.

El análisis extra-grupo (algoritmo de Maddison et al.) de componentes morfológicos claves mostró que el báculo tridigitado (complejo) es ancestral, y que evolucionó paralelamente (método de Ridley) en las especies excepcionales, asociándose a modificaciones del tamaño corporal y de las glándulas accesorias. El análisis ontogenético de tales caracteres mostró algunas especies de báculo simple con estadios tridigitados que involucionan. El estudio de varias trayectorias ontogenéticas muestra frecuentes cambios en los tiempos de inicio del crecimiento y diferenciación de varios órganos, asociados con efectos fenotípicos notables. Tales heterocronías pueden ser adaptaciones de la ontogenia a particulares condiciones ecológicas. Proj. DTI 2669/8623, U. de Chile y FONDECYT 86-1013.

LOS CROMOSOMAS APORTAN AUN A LA SISTEMÁTICA. Martínez, A. Centro de Estudios Farmacológicos y de Principios Naturales (CEFAPRIN), Buenos Aires, Argentina.

Se discuten técnicas modernas que se usan actualmente en citotaxonomía. A partir de la década del 70, se produce un cambio significativo en el estudio de los cromosomas con fines sistemáticos. Mientras que en la década del 50 se hicieron aportes importantes interpretativos debido a la gran contribución del Neodarwinismo, en especial la definición y descripción del Sistema Genético, en la década del 70 el avance se produce en el campo de las técnicas. Dentro de las técnicas no moleculares podemos enumerar: 1.- Medición del contenido de ADN nuclear in situ. 2.- Estudio de la distribución y cantidad de heterocromatina constitutiva mediante varias técnicas de bandeo. 3.- Localización de los organizadores nucleolares y nucleolos activos por medio de técnicas de impregnación con plata. 4.- Identificación de componentes de ADN satélite y su relación con bandas de heterocromatina por hibridación in situ. 5.- Empleo de métodos numéricos en el análisis de los cariotipos. Estas técnicas no sólo han contribuido a la diferenciación más precisa de especies como es el caso de las mediciones de contenido ADN, sino también las técnicas de bandeo han sido muy útiles para la definición de variedades o razas geográficas desde un punto de vista infragenerico. El estudio de su origen y naturaleza de su variación ha sido de gran relevancia.

EL FINAL DEL ARCO IRIS: LA BUSQUEDA DE LOS METODOS OPTIMOS EN LA SISTEMÁTICA Y LA BIOGEOGRAFIA (Rainbow's end: the quest for optimal methods in Systematics and Biogeography). Crisci, J. V. Laboratorio de Sistemática y Biología Evolutiva. Museo de La Plata. La Plata, Argentina.

La Sistemática se halla en la actualidad en una fecunda ebullición de ideas. Existe una febril búsqueda, no exenta de apasionada controversia, del método óptimo. Desde los distintos enfoques (Cladismo, Feneticismo y Evolucionismo) se ha tratado de demostrar la validez del método propio y la deficiencia del ajeno. Sin embargo, la reciente utilización de caracteres taxonómicos producto de la tecnología del ADN recombinante, coloca a esta controversia bajo una nueva perspectiva: la naturaleza del carácter taxonómico utilizado condiciona el método de análisis. En el contexto del Cladismo se han propuesto modificaciones a las técnicas conocidas a fin de adecuarse específicamente a estos nuevos caracteres moleculares.

Por otra parte, y en estrecha relación con el devenir de la Sistemática, la Biogeografía Histórica, también se plantea la búsqueda de su método óptimo. La Biogeografía de la Vicariación es, con sus diversas vertientes (análisis de componentes, simplicidad cuantitativa, compatibilidad de componentes), una fuente de controversia y al mismo tiempo de orientación en esa búsqueda.

ESTUDIOS MOLECULARES Y CLADÍSTICOS EN PLANTAS CHILENAS (Molecular and cladistic studies in Chilean plants). Steussy, T. and Crawford, D. Department of Botany, Ohio State University, Columbus, Ohio, U.S.A.

Análisis cladísticos de datos sistemáticos han sido aplicados, durante más de una década, para construir hipótesis filogenéticas en diferentes grupos de plantas. Los caracteres morfológicos han sido los más frecuentemente usados en este tipo de estudio. Durante los últimos cinco años, datos moleculares se han aplicado frecuentemente para inferir relaciones evolutivas entre plantas. Parte de estos datos se han usado en grupos que habían sido previamente analizados cladísticamente. Presentamos brevemente la teoría y métodos de la cladística, las categorías moleculares usadas frecuentemente (principalmente alozimas y sitios de restricción de ADN cloroplastidial), y aplicaciones de estos datos a varios grupos de plantas presentes en el archipiélago Juan Fernández. Se dará énfasis en el género endémico *Dendroseris* (Asteraceae) y en las especies endémicas de *Wahlenbergia* (Campanulaceae).

## SIMPOSIO TAMAÑO CORPORAL Y ECOLOGIA: IMPLICACIONES Y PERSPECTIVAS

Coordinadores: *Rodrigo Medel, Fabián Jaksic*

**TAMAÑO CORPORAL: UN NUEVO MARCO DE REFERENCIA PARA ESTUDIOS DE DIVERSIDAD BIOLÓGICA.** (Body size: a new framework for studies of biological diversity). Medel, R.G. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Durante los últimos años se ha originado una línea de investigación centrada en la búsqueda de relaciones entre el tamaño corporal de las especies con sus atributos de abundancia y distribución. Si bien es cierto que históricamente el tamaño corporal ha formado parte de algunas teorías ecológicas (e.g., competencia, depredación) y de problemáticas fisiológicas; sólo recientemente se ha reconocido su carácter de elemento común a estas disciplinas. En consecuencia, se ha comenzado a definir un nuevo marco de referencia que integra mediante una misma moneda de intercambio (el tamaño corporal) a fenómenos tratados en forma independiente tanto por especialistas del ámbito ecológico (e.g., diversidad) como fisiológico (e.g., tasas metabólicas). En el contexto de esta aproximación, es posible distinguir: i) Estudios que exploran las relaciones entre los atributos mencionados sobre diferentes escalas espaciales (local, regional, continental) y ii) Estudios que exploran relaciones entre atributos sobre diferentes escalas temporales (ecológica y evolutiva). En este simposio se expondrán tanto trabajos que nutren esta nueva aproximación así como los que reflejan esta nueva forma de abordar los problemas ecológicos.

**LA RELACION ENTRE EL TAMAÑO CORPORAL Y LA DENSIDAD POBLACIONAL EN COMUNIDADES DEL INTERMAREAL ROCOSO: UNA APROXIMACION ECOLOGICA.** (Scaling population density to body size in rocky intertidal communities: An ecological approach). Marquet, P.A. & Navarrete, S.A. Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La relación existente entre el tamaño del cuerpo de los organismos y su densidad poblacional ha sido investigada primariamente en ambientes terrestres y con un fuerte sesgo taxonómico. Se ha sugerido que su forma específica depende de la intensidad de procesos ecológicos como son depredación y competencia. En este trabajo documentamos esta relación para sistemas intermareales, considerando comunidades locales e incluyendo organismos filogenéticamente disímiles. Adicionalmente, a través de dos experimentos de larga duración, de tipo presión, se evalúa el efecto que drásticos cambios en la estructura y trama de interacciones ecológicas ejercen sobre el "scaling" tamaño corporal-densidad poblacional. Nuestros resultados muestran que a) La densidad poblacional disminuye con el tamaño corporal con una pendiente igual a -1.0; b) La relación de scaling no es afectada por alteraciones dramáticas en la red de interacciones ecológicas. Esto permite concluir que a) las explicaciones para esta relación, que se basan en el uso diferencial per capita de la energía que realizan organismos de distinto tamaño corporal no es totalmente satisfactoria; b) la relación tamaño corporal-densidad poblacional es independiente de los cambios en los procesos ecológicos que actualmente operan en el seno de comunidades locales.

Financiamiento: FONDECYT F-1100, 0432/88, 0585/89.

**TAMAÑO CORPORAL, USO DE ENERGIA Y LA REGLA DE BERGMANN: UNA NUEVA EVALUACION.** (Body size, Energy Use and the Bergmann's Rule: A New Appraisal). Bozinovic, E. Depto. Cs. Ecológicas, Fac. Ciencias, Universidad de Chile.

Uno de los esfuerzos pioneros más estimulantes para el estudio de las consecuencias fisiológicas y eco-geográficas del tamaño corporal fue la regla de Bergmann. Esta regla postula que: "razas de vertebrados de sangre caliente de climas fríos tienden a ser más grandes que razas de climas cálidos". Independientemente de las evidencias a favor y en contra de esta regla, es claro que un aumento en tamaño provoca bajas tasas metabólicas peso-específicas. Sin embargo, cuando se considera el individuo completo ellas son mayores. Es decir, un gran tamaño requiere un mayor volumen de alimento, lo cual implica que la tasa de gasto de energía ecológicamente relevante es la tasa total.

Luego, dado que el tamaño corporal determina la magnitud con que los organismos interactúan con su ambiente, y dado que un endotermo pequeño posee bajos gastos y requerimientos totales de energía en comparación a uno grande, propongo que, contrariamente a los postulados de la regla de Bergmann, es teóricamente esperable que entre razas geográficas de endotermos, un tamaño pequeño se encuentre en ventaja respecto del uso de energía en un ambiente frío y poco productivo. Usando aspectos ecofisiológicos de uso de energía pretendo evaluar esta proposición en razas geográficas de roedores.

Parcialmente financiado por FONDECYT 0813.

**TAMAÑO CORPORAL DEL HOSPEDADOR Y PATRONES DE DISTRIBUCION DEL TAMAÑO CORPORAL DE SUS PARASITOS EN TRES NIVELES COMUNITARIOS JERARQUICOS.** (Host body size and patterns of body size distribution of parasites in three hierarchical community levels). George-Nascimento, M. & J. L. Iriarte. Departamento de Biología Marina. Area BIOTECMAR, P. Universidad Católica de Chile.

Se indaga acerca de la importancia que tendría el tamaño corporal de la especie de hospedador (en mamíferos, peces de agua dulce y marinos) sobre las variaciones en la riqueza de especies de helmintos endoparásitos que los habitan. Se considera además, las variaciones ontogenéticas del tamaño corporal del hospedador sobre la riqueza de especies ecto y endoparasitarias encontradas en 10 especies de peces marinos colectados en Chile. Se discute la importancia que sobre lo expuesto, tendría el hecho de ser un animal ectotermo y endotermo.

Desde los parásitos se explora, describe y analiza estadísticamente, los patrones de distribución de la biomasa parasitaria de 90 taxa a nivel infracomunitario (en el individuo hospedador), a nivel de comunidad componente (población, especie) y a nivel de comunidad compuesta (redes tróficas de hospedadores).

Financiado por proyecto FONDECYT 0226/88.

TAMAÑO CORPORAL DE PREDADORES COMO PREDICTOR DE RELACIONES TRÓFICAS. (Predator body size as predictor of trophic relationships). Jaksic, F. Departamento de Ecología, Universidad Católica de Chile.

Las diferencias de tamaño corporal entre consumidores (predadores) simpátricos han sido usadas como evidencia de la existencia de competencia. Se han propuesto "reglas" que predicen cuál es el cociente de tamaño que debiera darse entre predadores para permitir su coexistencia. El proceso subyacente al fenómeno se supone es el de similitud límite en el uso de recursos (presas). El mecanismo causal que se invoca es que distintos tamaños corporales imponen el uso de presas que también difieren en tamaño; en concreto, que predadores más grandes consumen presas más grandes que predadores pequeños. Es decir, diferentes tamaños corporales indicarían una conducta de selección de presas (en contraste a uso indiscriminado). En este caso, el tamaño corporal del predador se supone que determina cuál debiera ser el tamaño óptimo de presa consumida, dependiendo de si el predador optimiza el tiempo de caza o la calidad de la presa. En consecuencia, se ha postulado que el tamaño corporal de predadores es un buen predictor de: (1) El cumplimiento de las relaciones de similitud límite en el uso de recursos; (2) indirectamente, de la invasibilidad de ensambles; (3) el tamaño de presa seleccionado; (4) indirectamente, el tamaño promedio de presa consumida; (5) la amplitud de nicho trófico. Yo pongo a prueba el valor predictivo del tamaño corporal en las cinco acepciones mencionadas, usando como organismos modelos a las aves rapaces diurnas y nocturnas. Mis datos provienen de una gran variedad de localidades que representan distintas regiones biogeográficas y situaciones de hábitat.

## SIMPOSIO NEUROPEPTIDOS Y RESPUESTA INMUNE

Coordinador: *Javier Puente*

### HEADACHE, NEUROPEPTIDES AND THE IMMUNE RESPONSE.

Mosnaim, A.D., Wolf, M. and Puente, J. Dept. of Pharmacology and Molecular Biology, U.H.S. The Chicago Medical School and Department of Psychiatry, Loyola University Stritch School of Medicine and North Chicago V.A. Medical Center, N. Chicago, Il. U.S.A.

A number of physical and psychological events, perceived by individuals as stressful can modify the immunological response. Some of these stimuli also produce changes in the processing and/or disposition of endogenous neuropeptides, especially those with opioid-like activity. This apparent relationship between changes in the immune system and variations in peptide availability has led some investigators to suggest a role for these substances in the modulation of the immune response. The observed significant and persistent increases in circulating methionine-enkephalin associated with the occurrence of the acute phase of a migraine attack and the dramatic and rapid changes in plasma peptide levels accompanying the different phases of a cluster headache provides with a model to test this hypothesis. Studies of blood samples from these patients and sex-matched, age-comparable drug-free controls shows an important number of individuals with NK cell activity significantly higher than the corresponding controls average. In order to elucidate mechanisms of action we are conducting in vitro cell-mediated cytotoxicity experiments using mouse spleen cells and YAC-1 mouse lymphoma target cells. Preincubation (4hr) of single cell mouse spleen suspensions with different MEF concentrations (range  $10^{-11}$  to  $10^{-3}$  M), prior to the addition of target cells results in modulation of NK activity, which appears to be dependent on peptide concentration. The effect of a number of other peptides with biological activity will also be discussed. Supported, in part by The National Headache Foundation.

### BRAIN, BEHAVIOR AND THE IMMUNE SYSTEM.

Wolf, M.E. and Mosnaim, A.D. Department of Psychiatry, Loyola University Stritch School of Medicine and North Chicago Veterans Administration Medical Center, and Department of Pharmacology and Molecular Biology, University of Health Sciences/ The Chicago Medical School, North Chicago, Illinois 60064, U.S.A.

Psychoneuroimmunology is a rapidly developing field which addresses the bidirectional interactions between the central nervous system and the immune system. An increasing body of research suggests that endogenous opioid-like peptides play a critical role in the mediation of these interactions. At the biochemical level it has been shown that these neuropeptides bring about the suppressive effect of stress on natural killer cell cytotoxicity and that stress related peptides and neurohormones modulate the macrophage tumoricidal activity. At the clinical level it has been shown that emotional "hardiness", a constellation of personality traits and coping mechanisms linked with health status, correlates with B-endorphin and IL-2 stimulation of NK cell activity. It is also well documented that emotional distress alters the incidence, severity, and course of illnesses which are immunologically resisted such as cancer, or associated with aberrant immunological function i.e., AIDS. Recent studies indicate that the length of survival in AIDS patients is correlated with psychological factors. The integration of genetic, endocrine, immunological and psychological research may provide a better understanding of the relationships between the brain, behavior and the immune system, operating in health as well as in various pathological conditions.

**PEPTIDOS OPIOIDES Y ACTIVIDAD CITOLITICA NK.** (Opioid peptides and cytolytic NK activity). Javier Puente Piccardo. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

La interrelación entre el sistema inmune y el sistema nervioso se basa en la directa inervación del parenquima de tejidos tales como timo, bazo, ganglios linfáticos, médula ósea y otros tejidos linfoides. Además la presencia en las células inmune competentes de receptores para diversas hormonas y neurotransmisores, como también la propiedad de éstas células de producir múltiples señales, en muchos casos compartidas con el sistema neuroendocrino, han establecido claramente una vasta inter-comunicación que ha permitido avanzar en el entendimiento de diversas situaciones fisiológicas y patológicas.

Esta comunicación bidireccional ha sido estudiada a muchos niveles y, en el presente caso, nuestro interés se ha centrado en la actividad citolítica mediada por células NK y su modulación por péptidos opioides.

Hemos estudiado la regulación ejercida sobre esta actividad por los péptidos, metionina-encefalina, leucina-encefalina y  $\beta$ -endorfina, tratando de correlacionar la estimulación observada con la existencia y propiedad de los receptores para péptidos opioides tanto en muestras normales como patológicas. Es un hecho establecido que los péptidos opioides influyen en diversas funciones del sistema inmune, como la síntesis de anticuerpos, proliferación de linfocitos y citolisis NK. Sin embargo, las características de los receptores involucrados y el mecanismo general de acción de estos péptidos en el sistema inmune no han sido hasta ahora aclarados.

Proyecto Fondecyt 88-0874

**INTERACCIONES ENTRE SISTEMA INMUNE Y NEUROENDOCRINO** (Immune - Neuroendocrine Network). Sepúlveda Cecilia Departamento de Medicina Hospital Clínico Universidad de Chile.

Aunque el sistema inmune posee sus propios mecanismos de regulación, actualmente está bien establecida la inmunorregulación neuroendocrina. Esta tiene su base en una compleja red de interacciones bidireccional entre sistema inmune, sistema neuroendocrino, y estructuras autonómicas.

Las linfoquinas, monoquinas y Ac producidos durante la respuesta inmune afectan mecanismos neuroendocrinos. El sistema neuroendocrino puede o no responder emitiendo señales reguladoras que limiten su expansión excesiva, previniendo enfermedades autoinmunes y linfoproliferativas.

La sobreestimulación del sistema neuroendocrino puede ser uno de los factores mediadores de la inmunosupresión que se observa en la fase aguda de enfermedades infecciosas, shock séptico, trauma, quemaduras, cáncer, y otras condiciones patológicas.

La inmunomodulación puede contribuir a restablecer la función inmune en estos individuos:

Proyecto Fondecyt 88-0874

## SIMPOSIO GENOMA Y EVENTOS FISIOLÓGICOS EN CELULAS VEGETALES

Coordinador: *Jorge Sans*

### SIMPOSIO

**GENOMA Y EVENTOS FISIOLÓGICOS EN CELULAS VEGETALES** (Genome and physiological events in vegetal cells).

Sans, J. (Coordinador).

Durante la vida celular ocurren una infinidad de eventos fisiológicos, que de una u otra manera, dependen de la expresión de genes en momentos, muy particulares.

Se han utilizado diversas estrategias experimentales en células vegetales mantenidas en un tejido *in toto*, para tratar de vincular eventos celulares a sectores del genoma. Una de estas estrategias ha sido la producción de células multinucleadas con núcleos homo y heteroploides para asociar eventos propios del ciclo celular con la presencia, en estos núcleos, de determinados cromosomas. Otra metodología utilizada con este mismo fin, ha sido el incorporar al DNA nucleótidos que bajo determinadas condiciones pueden alterar la expresión del genoma. De esta manera, la brotosustitución del genoma e irradiación posterior con luz de 313 nm., por una parte y la incorporación al DNA de un análogo de la citidina (5-azacitidina) que provocan hipometilación del DNA, por otra parte, han permitido asociar algunos eventos a sectores del genoma que replican en momentos particulares del período S.

Por último, mediante experimentos en que se utiliza el estrés térmico, se ha podido detectar sectores del genoma que confieren propiedades de termo tolerancia en semillas de árboles autóctonos chilenos.

En este Simposio se analizan estas estrategias y los logros con ellas alcanzados como así las perspectivas futuras de nuevos abordajes metodológicos en este tipo de estudios.

**LA INDUCCION DE CELULAS MULTINUCLEADAS Y SU EMPLEO EN EL ESTUDIO DE EVENTOS DEL CICLO PROLIFERATIVO** (The induction of multinucleated cells and its usefulness in the study of events in the proliferative cycle).

Giménez-Martín, G. Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Velázquez 144, 28006-Madrid, España.

La inducción experimental de células homocarióticas poliploides  $8n$  en Allium cepa L. puede llevarse a cabo por inhibición de dos citocinesis sucesivas. Así se pueden formar células binucleadas ( $4n-4n$ ), trinucleadas ( $2n-4n-2n$ ) o tetranucleadas ( $2n-2n-2n-2n$ ), dependiendo de la proximidad de los grupos cromosómicos en metafase y de su inclusión o no en un único núcleo al cursar la telofase.

Si simultáneamente se emplea un agente multipolarizante, las células  $8n$  pueden distribuir su genoma en varios núcleos de ploidías muy diferentes y decididamente aneuploides en su composición génica.

Tanto las primeras, homocarióticas, como las segundas, heteroploides y aneuploides, se han utilizado para determinar el grado de autonomía de cada núcleo en la replicación y culminación de las etapas interfásicas y mitóticas, así como el papel de ciertos cromosomas (como el cromosoma NOR) en dicha autonomía nuclear, proporcionando una metodología útil para la disección cromosómica del ciclo celular.

GENOMA Y REGULACION DE EVENTOS DEL CICLO CELULAR (Genome and regulation of events of the cell cycle).

De la Torre, C., Sans, J., Merquidich, D., Galanti, N., González-Fernández, A., Gómez-Abián, M. y Aller, P., Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid, España y Departamento Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La replicación secuencial del genoma permite alterar la funcionalidad de segmentos de éste por bromación durante fracciones del período S y posterior irradiación, en anoxia, de las células con su DNA parcialmente bromado.

Esta metodología ha permitido, en meristemas de la raíz de *Allium cepa* L., determinar el momento de replicación de secuencias del genoma relacionados con cada uno de los cuatro puntos de transición (TPs) donde se requiere síntesis de proteínas para la progresión de la célula a etapas más avanzadas de su ciclo celular. La replicación de las secuencias implicadas en los dos TPs para síntesis de proteínas situadas en el temprano y tardío G<sub>1</sub> están en el temprano y tardío S respectivamente. Las secuencias implicadas en el TP situado en G<sub>2</sub> lo hacen en el centro del S, mientras que secuencias dispersas por todo el genoma parecen ser responsables del TP situado en profase.

METILACION DEL DNA Y EVENTOS RELACIONADOS CON DIFERENCIACION Y DIVISION CELULAR. (DNA methylation and events related to cell differentiation and cell division). Sans, J., Leyton, C. and Merquidich, D., Departamento Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se ha postulado que la metilación de citosina en secuencias dinucleotídicas C-G del DNA, sería un mecanismo mediante el cual se controlaría la expresión génica. Se ha comprobado, en una gran variedad de células, que la administración de 5-azacitidina (5-AzaC), análogo de la citidina, y poderoso agente hipometilante del DNA, produce activación génica.

En nuestro laboratorio, con el fin de asociar, desde un punto de vista morfológico, sectores del genoma con eventos celulares involucrados con el proceso de división o diferenciación celular hemos usado como estrategia experimental el efecto hipometilante del DNA DE 5-AzaC en raíces de *Allium cepa* L.

Nuestros resultados muestran que la administración de 5-AzaC provoca: a) un aumento significativo en la elongación celular que ocurre en la zona de diferenciación de la raíz, b) una aceleración de la reorganización nuclear que se lleva a cabo al final de la mitosis y c) una alteración en el grado de condensación de la cromatina durante la mitosis. Los dos últimos eventos son particularmente evidentes cuando el análogo se administra durante la primera mitad del período replicativo.

Estos resultados sugerirían que los eventos estudiados estarían controlados por genes cuya expresión se regularía por el grado de metilación del DNA. (Proyecto FONDECYT 89/812).

EXPRESION DE GENES DE RESISTENCIA AL ESTRES TER-MICO EN DOS ARBOLES NATIVOS DE CHILE, *Araucaria araucana* Y *Prosopis chilensis*. (Gene expression of resistance to heat shock in two native trees of Chile, *Araucaria araucana* and *Prosopis chilensis*). Cardemil, L. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

*Araucaria araucana* constituye bosques relictuales templados de alta montaña en la Región Austral de Chile, donde existen diferencias de temperatura entre día y noche y entre estaciones de 20°C. *Prosopis chilensis* en cambio, es una leguminosa, fijadora de nitrógeno de la región árida y semi árida del Norte y Centro de Chile. En estas regiones la temperatura llega a más de 60°C en los días de Verano.

Hemos investigado como las semillas y plántulas de estos dos árboles responden a una exposición a altas temperatura, a través de experimentos de estrés térmico y como las semillas y plántulas adquieren termotolerancia, cuando son expuestas a temperaturas subletales.

En verdad, el principal objetivo de esta investigación es probar la hipótesis de que "Árboles nativos están adaptados a su medio natural porque ellos muestran un alto grado de expresión de los genes de resistencia para soportar condiciones extremas ambientales. El alto grado de expresión puede deberse ya sea a mecanismos de regulación de la función del gen, o a un mayor número de copia de los genes de resistencia".

Electroforesis en poliacrilamida SDS, de las proteínas sintetizadas durante el estrés de temperatura y en presencia de S-metionina, como también hibridización Norte usando dos sondas de proteínas de estrés térmico, nos ha permitido evaluar esta hipótesis. PROYECTO FONDECYT, 0160/89; AID GRANT# DPE-5542-G-SS-8073-00; PROYECTO de Desarrollo, Universidad de Chile # 178501-4.

# Comunicaciones

ANÁLISIS DE PROBITS DE LA AUSENCIA CRÓNICA DE ALIMENTO COMO FACTOR LETAL PARA LARVAS ZOEAS DE *Cancer setosus*. MOLINA, 1982. (Probits analysis of chronic starvation as a lethal factor for *Cancer setosus*, Molina 1982 zoea larvae). Abarca, E. y Schmiede, P. Depto. Biología Marina, Facultad Ciencias del Mar, U. del Norte, Coquimbo.

Se analizó en laboratorio la mortalidad de larvas zoea de *C. setosus* en las condiciones de temperatura prevalentes durante el verano 87-88 y el invierno 88. Para cada experimento se usaron las larvas resultantes de una sola masa de huevos.

Se midió la mortalidad en grupos de 20 larvas en cada uno de los 5 estados de zoea.

Cada zoea se mantuvo en un recipiente plástico de 100 cc, con agua de mar filtrada (1 u) y tratadas con luz U.V..

Las primeras zoeas no fueron alimentadas. Las larvas de los estados II al V se aislaron de un cultivo masivo alimentados con nauplios de *Artemia* sp., el día que se detectó su muda al estado correspondiente. La supervivencia de las zoeas y temperatura de los recipientes se registraron diariamente.

Los porcentajes de mortalidad se transformaron a probit provisorios y luego a probit de trabajo, que adecuadamente ponderados permitieron calcular la dosis letal al 50 % (L.D. 50) y sus intervalos de confianza, que en este caso se expresan en días sin alimento.

El experimento realizado puede ser usado como "blanco" para evaluar la toxicidad de diversos alimentos para cultivo larval o bioensayos de fármacos, o agentes contaminantes diversos que usen las larvas de *C. setosus* como material de bioensayo o para comparar el efecto de la ausencia de alimento para larvas de otras especies de crustáceos decápodos.

POSIBLE MECANISMO DE LA POTENCIACIÓN ATP-BRADICININA EN VEJIGA DE RATA. (Possible mechanism of the potentiation ATP-bradykinin in the rat bladder)

C.G. Acevedo,

Dpto. de Ciencias Fisiológicas, P. Universidad Católica y Universidad de Concepción, Bator. J. P. Huidobro-Toro

Experimentos realizados en conducto deferente de rata demuestran una acción sinérgica de bradicinina (BC) sobre la actividad contráctil de ATP y la estimulación eléctrica transmural del tejido, sin que se aprecien cambios en las contracciones inducidas por noradrenalina. Para determinar el mecanismo de la interacción ATP-BC se estudió la actividad de varios congéneres de BC en la respuesta contráctil inducida por ATP y estimulación transmural en vejiga de rata, órgano que posee una neurotransmisión purinérgica y colinérgica.

Las vejigas de rata se suspendieron en un baño de órgano aislado con solución Tyrode en presencia de 3.4  $\mu$ M de guanetidina y, salvo en los ensayos con acetilcolina, (AC) con 1  $\mu$ M de atropina. La vejiga fue estimulada transmuralmente con pulsos de 1 msec a frecuencia de 0.1 a 5 Hz empleando un voltaje supramáximo. La tensión del tejido se registró isométricamente en un polígrafo.

La BC (0.1-3 nM) no alteró la respuesta contráctil inducida por AC, pero sí potenció las contracciones inducidas por ATP en forma dosis dependiente. Esta acción sinérgica fue inhibida por el antagonista de BC, D-Arg<sup>0</sup>, Hyp<sup>3</sup>, Thi<sup>5</sup>, 8, D-Phe<sup>7</sup> BC. El empleo de análogos de BC potenció la actividad eléctrica y las contracciones inducidas por ATP. El sinergismo BC ocurrió con ATP y ADP, agonistas purinérgicos que son rápidamente hidrolizables por ectoenzimas, en cambio no modificó el efecto de los derivados resistentes a la hidrólisis  $\alpha$ B ATP y  $\beta$  m ATP.

La diferente interacción de BC con los nucleótidos de purina utilizados sugiere que BC pueda actuar inhibiendo ectofosforilasas responsables de la degradación de los neurotransmisores purinérgicos.

Apoyados por Proyectos FONDECYT 0305-88 y 0699-89.

Direcc. de Investigación, Univ. de Concepc. 20.33.29

CARACTERIZACIÓN DEL "PALO PODRIDO": UN PROCESO NATURAL DE DELIGNIFICACIÓN DE LA MADERA (Characterization of palo podrido: a natural process of delignification in wood).

Aosin, E. (1); Blanchette, R. (2); Silva, H. (1) y Lanier, C. (3).

(1)INTA, Universidad de Chile; (2)Dept. Plant Pathology, University of Minnesota, St. Paul, USA; (3)Lab. Biochimie, CNRS, Thiverval-Grignon, France.

Los hongos basidiomicetes de pudrición blanca cumplen un rol de primera importancia en el ecosistema forestal gracias a su capacidad de degradar todos los componentes de la madera (celulosa, hemicelulosas y lignina). Varias especies degradan en forma selectiva la lignina, dejando la celulosa intacta. Sin embargo, por lo general, esta selectividad se ve restringida a zonas muy localizadas, inmersas dentro de extensas zonas de delignificación simultánea. Esto contrasta con el fenómeno, único, que se ha descrito en el bosque valdiviano del Sur de Chile, el "palo podrido" o "palo blanco", en el cual troncos enteros de madera en descomposición muestran una delignificación selectiva que se extiende a todo su interior.

Los cambios químicos y morfológicos que ocurren durante la formación del palo podrido fueron investigados. La delignificación selectiva ocurre principalmente en troncos de *Eucryphia cordifolia* y *Mythofagus doehnei*. Estos últimos poseen, de todas las maderas nativas estudiadas, el menor contenido en lignina, la cual se caracteriza por su alto número de unidades aromáticas no condensadas y por su elevada proporción de unidades siringilo, con respecto a las unidades guaiacilo. *Ganoderma annularis*, el principal hongo encontrado en la madera degradada, coloniza los árboles aún en pie, formando aparentemente zonas localizadas de delignificación que se extienden gradualmente a todo el interior.

Los estudios de microscopía electrónica mostraron que el proceso de delignificación es difuso en toda la pared. La lignina de la lámina media es la última en ser removida. Depósitos de manganeso, resultado de la acción de la Mn-peroxidasa, fueron encontrados en algunas, pero no en todas las muestras delignificadas selectivamente. En estudios avanzados de colonización, se determinó que algunas muestras estaban compuestas casi exclusivamente de celulosa, aunque ésta tenía un grado reducido de polimerización. Esta depolimerización resultaría de la acción de enzimas hidrolíticas y no involucraría a las especies oxidativas generadas durante la delignificación.

Proyecto financiado por PNUD, FONDECYT y NSF.

RELACION ENTRE ABUNDANCIA DE *Rhizobium* Y COMPETENCIA INTRAESPECÍFICA EN POBLACIONES DE *Acacia caven* EN LA IV REGIÓN DE CHILE (Relationship between *Rhizobium* abundance and intraspecific competition in *Acacia caven* population in the IV Region of Chile).

Moullera, L.E. y Villafior, M.L. (\*) Departamento de Biología y Química, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena.

*Acacia caven* (Leguminosae) es un componente importante de las comunidades vegetales de las zonas áridas de Chile. Asociado a sus raíces se encuentran bacterias del género *Rhizobium* que reducen el nitrógeno atmosférico en una forma asimilable por la planta. Este proceso es importante donde el nitrógeno en los suelos es un factor limitante. Por otro lado, Gutiérrez y Fuentes (Oecol. Plant., 1979, 14(2): 151-158) han mostrado evidencias de competencia intraespecífica en poblaciones de *A. caven* (Leguminosae) en la zona central de Chile.

En el presente trabajo se contrasta la hipótesis que a mayor abundancia de *Rhizobium* sp. se minoraría la competencia intraespecífica en *A. caven*.

Se determinó el número de *Rhizobium* en la rizosfera de 4 poblaciones de la especie en un transecto altitudinal en la IV Región de Chile, mediante la técnica del Número Más Probable, usándose semillas estériles de *A. caven* en una serie de 7 diluciones. La densidad de *Rhizobium* se comparó con el coeficiente que estima la intensidad de competencia (*sensu* Gutiérrez y Fuentes), encontrándose una correlación negativa y significativa entre éstas dos variables.

Se discute cómo la abundancia y distribución de *Rhizobium* en simbiosis con las raíces de *A. caven* podrían estar regulando la competencia intraespecífica de esta especie en ambientes áridos.

Financiamiento DIULS. (\*) Gutiérrez, J.R. debería aparecer como autor, de permitirlo los reglamentos.

**RECONSTRUCCION TRIDIMENSIONAL DE EMBRIONES DE RATON A BASE DE CORTES SERIADOS**  
(Tridimensional reconstruction of mouse embryos from serial sections)  
Amanda A. y A. Doggenweiler, C.  
Dpto. Biología, Fac. Ciencias, U. de Chile.

En el desarrollo inicial de mamíferos se reconocen una serie de procesos conectados temporal y espacialmente. Tales eventos incluyen: divisiones celulares, desplazamientos y cambios de forma celular. Las evidencias experimentales demuestran que estos fenómenos están relacionados con el control y regulación del desarrollo normal. Sin embargo, la limitante de estos estudios ha sido el escaso control de ciertas variables. En este sentido nosotros hemos planteado un modelo teórico que permite abordar tal problema y cuyo fundamento metodológico se encuentra en el desarrollo y manejo de programas de computación. Estos programas consideran como parámetro relevante el conjunto de interacciones entre superficies celulares (energía de superficie). Con esta aproximación nosotros hemos podido simular, en dos dimensiones, los cambios de forma de cada célula así como sus desplazamientos.

Como objetivo final aspiramos a comparar nuestra simulación con el desarrollo embrionario real. Como primer paso hemos desarrollado técnicas de reconstrucción tridimensional de embriones de ratón a base de cortes seriados. En paralelo, estamos desarrollando algoritmos que nos faciliten el proceso de comparación de la simulación.

Fondecyt 2036, DTI U. de Chile 2807 y Fundación Andes.

**EL SITIO ACTIVO DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA DE LEVADURAS : MARCACION QUIMICA Y AISLACION DE PEPTIDOS.**  
(Active site of yeast phosphoenolpyruvate carboxylase: Chemical modification and isolation of peptides). Alvear, M., Quiñones, V., Jabalquinto, A.M., Encinas, M.V. y Cardemil, E. Departamento de Química, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile.

La carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) de levaduras, se marcó con la sonda fluorescente 1,5-I-AEDANS. Se encontró una estequiometría de marcación de 1,05 mol de reactivo/mol de subunidad de enzima. Se logró una casi completa protección de la inactivación con MnADP o MnATP, lo que sugiere que 1,5-I-AEDANS interactúa con un grupo sulfhidrilo de la enzima localizada en el sitio de unión del nucleótido. Utilizando esta misma sonda fluorescente fue posible determinar un carácter hidrofóbico para el sitio de unión y una relativa rigidez de la sonda en ese sitio.

La enzima marcada y carboximetilada fue digerida con tripsina y los péptidos se resolvieron por HPLC con columna RPC-18 en gradiente de acetonitrilo, determinándose su absorción a 337 nm y su fluorescencia. La fluorescencia se encontró asociada a dos péptidos que eluyen al comienzo de la gradiente.

Por otra parte, resultados obtenidos por titulación de la enzima con DTNB; modificación química de la PEPCK con diversos reactivos específicos para grupos ditioles vecinos y la formación de un excímero al marcar la enzima con pireniodoacetamida, nos llevan a sugerir la presencia de dos grupos sulfhidrilo cercanos, los cuales podrían reaccionar indistintamente con el 1,5-I-AEDANS, lo que podría explicar la obtención de 2 péptidos fluorescentes.

En la actualidad, se trabaja en la acumulación de masa de los péptidos obtenidos con el propósito de determinar su NH<sub>2</sub>-terminal y proceder a la secuenciación aminoácida.

Financiado por FONDECYT 88-1060. El fluorímetro GREG-200 empleado provino de Proyecto FONDECYT.

**ALGUNAS CONSIDERACIONES DE CARACTER BIOLÓGICO Y CUANTITATIVO EN EISENIA FOETIDA ALIMENTADAS CON SANGRE Y CONTENIDO RUMINAL DE VACUNO.** (Some biological considerations of quantitative character on Eisenia foetida fed on blood and ruminal content of beef cattle). Aldo, L., De Jourdan, V., Núñez, H., López, M., Benavides, K., Vargos, C. Departamento de Ciencias Agronómicas Básicas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Temuco. (Patrocinio: H. Herrero).

La lombriz *Eisenia foetida*, tiene la capacidad de descomponer desechos orgánicos agrícolas especialmente estiércol. Se ha estudiado su comportamiento y efectividad, como agente biodegradador frente a sustratos de contenido ruminal y sangre en diferentes proporciones, como así mismo sus productos biológicos identificables como humus (N, P, K y materia orgánica).

La metodología empleada para determinar variables de reproductividad (nº total de huevos, ejemplares inmaduros, ejemplares adultos) y masa total, fué de muestreo por cuadrícula o cuadros. Para determinar la disponibilidad de nutrientes se procedió a analizar, el humus de acuerdo a la metodología tradicional para los análisis de suelos.

De los resultados obtenidos, se puede inferir que *Eisenia foetida* presenta un potencial reproductivo de rango superior, cuando se mantiene en lechos que tiene como sustrato predominante el contenido ruminal, destacándose una producción que supera los 1.500 huevos en relación a otros lechos.

En cuanto a bioelementos y materia orgánica, los análisis de diferentes lechos, han revelado niveles importantes en nitrógeno, del orden de 53.0 ppm en mezclas ruminal-guano y de 118.4 ppm en sangre vacuno-guano. Valores interesantes en cuanto a P, K y materia orgánica permiten proyectar la utilización de este humus, o experimentos que tienen que ver con fertilizantes, de bajo valor económico y de una aplicación útil a tareas agrícolas de pequeños y medianos productores. Conv. UFR - SOPROCAR.

**COMPOSICION LIPIDICA DE CLOROPLASTOS SENSIBLES Y RESISTENTES AL FRIO DE *Nothofagus dombeyi*.** (Lipid composition of frost sensitive and frost resistant chloroplasts of *N. dombeyi*). Alberdi, M., Fernández, J., Romero, A., Cristi, R. y Peruzzo, G. Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias e Instituto de Medicina Preventiva, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Cambios de concentración y composición lipídica de biomembranas vegetales, preservarían su integridad ante un estrés frío. El aumento del grado de insaturación de ácidos grasos mantendría la fluidez de las membranas biológicas. Se informa sobre estos cambios utilizando como modelo de membrana, tilacoides de cloroplastos resistentes y sensibles de *Nothofagus dombeyi*.

Los cloroplastos se aislaron de hojas de *N. dombeyi*, recolectadas en los períodos de mayor (invierno) y menor (verano) resistencia al frío, utilizando metodología tradicional y atmósfera de N<sub>2</sub>. Tilacoides se obtuvieron ultracentrifugando en gradiente discontinua de sacarosa. Lípidos se extrajeron con CHCl<sub>3</sub>, MeOH (2:1 v/v), se deslipemizaron e identificaron por TLC comparando con estándares auténticos. Fosfo y galactolípidos se cuantificaron colorimétricamente y ácidos grasos por cromatografía gaseosa.

Los niveles de lípidos polares fueron más altos en tilacoides aclimatados. Los ácidos grasos mayormente representados fueron el 16:0, 18:1 y 18:0. En el período de mayor resistencia se incrementaron, en algunos lípidos individuales, ácidos grasos insaturados.

Se concluye que, los cambios en el grado de insaturación de ácidos grasos asociados con mayor aclimatación al frío de *N. dombeyi* son más evidentes en tilacoides que en hojas enteras. Además, en especies moderadamente resistentes, el cambio drástico del grado de insaturación de biomembranas ante estrés frío estaría poco desarrollado. Acumulación de otros metabolitos crioprotectores en esta especie, produciría adecuada protección ante estrés.

Proyecto FONDECYT 0897/88, DIC-UACH RS-86-30 y GTZ/BRD.

VESICULAS Y MICELAS BILIARES AISLADAS RAPIDAMENTE POR ULTRACENTRIFUGACION. (Biliary vesicles and micelles rapidly isolated by ultracentrifugation). Amigo, L., Nervi, F., Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile.

El colesterol biliar se encuentra solubilizado en vesículas fosfolípicas o micelas mixtas de sales biliares y fosfolípidos. Una fase crítica en la patogenia de la litiasis biliar es la cristalización del colesterol, la cual ocurre a partir de la fusión de vesículas. El estudio de estas partículas transportadoras se ha hecho hasta ahora fundamentalmente por cromatografía en columnas. Este método es largo y por el uso de buffers se alteran tanto la proporción de vesículas y micelas en la bilis, como la composición de ellas. El objetivo de este estudio fue diseñar un método rápido de aislamiento de vesículas biliares, tendiente a mantener las características originales de los transportadores. El método de ultracentrifugación desarrollado, utiliza Metrizamida para obtener una separación isopícnica de las vesículas en un rotor vertical. Para validar el aislamiento cuantitativo de las vesículas se utilizó cromatografía en gel de filtración, Ultragel Aca 34.

En experimentos de gradientes de densidad continua, preparados con bilis pura-bilis Metrizamida (18%), después de centrifugar a 50.000 rpm por 285 min a 10°C en un rotor vertical, se encontró que >92% del colesterol vesicular estaba en fracciones con  $d < 1,030$  g/ml. El diámetro de las vesículas en fracciones con  $d < 1,020$  g/ml fue de  $82 \pm 10$  nm y en fracciones con  $d = 1,030$  g/ml fue de  $57 \pm 8$  nm.

Al disolver Metrizamida al 16% en bilis humana y ultracentrifugar por 120 min a 10°C, el % de vesículas aisladas fue superior al 96%. La variación de la  $T^{\circ}$  de ultracentrifugación (4-24°C) y el almacenamiento de bilis humana por 24 h a 4°C, no modificó la proporción de vesículas biliares presentes en la bilis. El procedimiento descrito, constituye un método rápido, preciso y simple, que permite aislar y cuantificar el transportador vesicular de lípidos biliares por ultracentrifugación isopícnica.

SINTESIS DE APOLIPOPROTEINA A-I DURANTE LA ACLIMATIZACION DEL PEZ *Cyprinus carpio*. (Apolipoprotein A-I synthesis during the acclimatization of the carp fish). Amthauer, R., Araya, A., Concha, M., Inostroza, J., y Villanueva, J., Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile e "IBCN-CRNS, Bordeaux, Francia.

En la carpa, la proteína sérica más importante es la lipoproteína de alta densidad (HDL). Esta está conformada por las apolipoproteínas A-I y A-II, cuyas características de peso molecular y composición aminoácida se asemejan a las descritas para otros organismos.

La síntesis de apo A-I se evaluó por inmunoprecipitación en preparaciones de hepatocitos aislados de carpas aclimatizadas a verano e invierno incubados en presencia de  $^3$ H-Leu. Los hepatocitos de carpas de verano sintetizaron 6 veces más apo A-I que las preparaciones de invierno cuando ambas se incubaron a sus temperaturas de aclimatación. Sin embargo, en ambos casos la cantidad de apo A-I sintetizada representa la misma fracción del total de proteína sintetizada. En invierno la velocidad de síntesis de apo A-I es mayor que en verano cuando ambas se miden a 10°C. Consistente con estos hallazgos el número de hepatocitos que contienen apo A-I en su citoplasma, determinado por inmunohistoquímica, es mayor en carpas de verano que de invierno. Estos resultados muestran claramente una respuesta compensatoria a nivel de síntesis de apo A-I durante aclimatación.

Con el fin de medir los niveles del mRNA para apo A-I en ambos estados de adaptación se ha construido una biblioteca de cDNA en  $\lambda$ ambda gtl1. Para contar con sondas que nos permitan aislar recombinantes que contengan secuencias de apo A-I se procedió a digerir apo A-I con Brcn, los péptidos fueron aislados por HPLC. Dos péptidos fueron secuenciados y actualmente se están sintetizando oligonucleótidos. La secuencia de ambos péptidos fueron comparadas con las distintas secuencias de apo A-I conocidas. No se encontraron regiones de homología consistentes, lo que sugiere que apo A-I de carpa podría diferir bastante en su secuencia respecto a las de otros organismos.

(Proyectos FONDECYT 0933/88, DIC-UACH 8-86-29 y Programa de graduados OEA).

ESTUDIOS BIOQUIMICOS Y GENETICOS SOBRE LA REGULACION DE LA ACTIVIDAD DE LA ADENILIL CICLASA DE OOCITOS DE *Xenopus laevis*. (Biochemical and genetic studies on the regulation of the adenylyl cyclase activity from *Xenopus laevis* oocytes.) Antonelli, M., Purcell, P., y Allende, J.E., Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La adenilil ciclasa de oocitos de *Xenopus laevis* esta regulada por una proteína estimuladora  $G_s$  compuesta por subunidades  $\alpha_s$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ , y por la progesterona que causa la inhibición de la enzima en presencia de nucleótidos de guanina. La polilisina y la espermina estimulan la actividad de la adenilil ciclasa a ciertas concentraciones. Esta estimulación se debe a que estos compuestos policatiónicos favorecen la activación de la proteína  $G_s$  pues disminuyen la concentración de GTPs necesaria para la activación de la enzima en un orden de magnitud. La polilisina también disminuye dramáticamente la concentración de  $Mg^{+2}$  requerida por la adenilil ciclasa desde concentraciones mM a concentraciones  $\mu$ M. Estos efectos de los compuestos poliamínicos se asemejan a los observados con receptores que activan la adenilil ciclasa a través de  $G_s$ . Para profundizar en el estudio de los mecanismos de regulación de esta enzima se ha procedido a clonar la subunidad  $\alpha_s$  de oocitos de *X. laevis* a partir de una genoteca de cDNA en  $\lambda$ gt10. Se ha secuenciado uno de los clones positivos encontrándose una secuencia que codifica una proteína muy similar a la versión corta del  $\alpha_s$  de mamíferos. Esta secuencia se ha subclonado en pGEM3 bajo control del promotor de la polimerasa del fago T7 y se ha transcrito *in vitro* para producir mRNA para la subunidad  $\alpha_s$  con el propósito de microinyectarlo en oocitos y analizar su función.

(Apoyado por FONDECYT, The Council for Tobacco Research y la Universidad de Chile.)

DINAMICA POBLACIONAL DE *Chilina ampullacea* (Sow, 1841) (GASTROPODA: BASOMMATOPHORA). (Populations Dynamics of *Chilina ampullacea* (Sow, 1841) (Gastropoda: Basommatophora). Antonin, F.; Parada, E.; Valdebenito, I. y Peredo, S., Departamento de Ciencias Naturales, P. Universidad Católica de Chile-Sede Regional Temuco.

Con el propósito de conocer la dinámica poblacional de *Ch. ampullacea*, se realizaron muestreos mensuales en el sector Los Pinos del río Cautín, en la ciudad de Temuco. En cada oportunidad se tomaron 10 muestras de 25x25 cm, a lo largo de un transecto de orilla a orilla. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio para su procesamiento. Los parámetros poblacionales registrados fueron densidad, mortalidad, distribución de tallas y número de posturas; además de registrarse parámetros bio y gravimétricos.

Los resultados indican que los individuos de esta población presentan un rango de tallas de 1 a 25 mm, siendo la talla modal de 12 mm. El análisis anual señala un corrimiento de la talla modal de hasta 6 mm, situación que se verifica preferentemente entre julio y octubre. La aparición de posturas se registró entre septiembre y enero. La densidad poblacional varía a lo largo del año, alcanzando sus valores máximos entre septiembre y diciembre, coincidiendo esto con la aparición de las posturas. La mortalidad, que afecta fundamentalmente a los individuos de 12 mm, aumenta significativamente entre los meses de mayo y septiembre. El análisis del peso seco de las carnes de un individuo estandar revela dos máximas anuales, entre septiembre y noviembre y entre abril y julio. El peso seco de la concha experimenta un aumento anual progresivo, lo que unido al bajo incremento de la longitud, sugieren que la tendencia de crecimiento de los adultos de esta población, se debería más bien al engrosamiento de la concha que al crecimiento en longitud.

Financiado por Proyecto 2-87-4 CIPUC-TEMUCO

MUTAGENESIS Y REPARACION INDUCIDA POR FLAVONOIDEOS Y COMPUESTOS N-NITROSO OBTENIDOS DE ALIMENTOS. (Mutagenicity and DNA repair induced by flavonoids and N-Nitroso compounds in foods). Aranda, M., Osorio, A., Vargas, F. y Monichi, E. Depto. Química Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile.

Mutágenos ambientales pueden producir daño al ADN llegando a ser una de las principales causas de cáncer. Chile tiene una de las más altas frecuencias de cáncer gástrico en el mundo y se ha postulado que el consumo de vino podría ser un factor de riesgo para adenocarcinoma gástrico, además del consumo de nitrosaminas. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto mutagénico en Salmonella y de reparación del ADN de células epiteliales humanas, de extractos de cecinas y flavonoides obtenidos de vinos. Las cecinas se sometieron a un método de extracción de Nitrosaminas en columna de celite; la separación y cuantificación se efectuó por cromatografía de gas-líquido, con doble fase estacionaria y detector específico de  $N_2$  con perla de Rubidio. La técnica de preincubación fue usada para exponer los compuestos flavonoides (0,1-10  $\mu\text{g/ml}$ ) a  $\beta$ -Glucosidasa hasta una completa hidrólisis. Los resultados obtenidos en cecinas muestran alta mutagenicidad en TA-100 y TA-1535 debido a la presencia de 6-440  $\mu\text{g/Kg}$  de DMN y DEN. La frecuencia de mutagenicidad en TA-98 de Quercetina fue mayor que Malvidin y Delfinidin, en cambio Catequina y Epicatequina no dieron revertantes His<sup>+</sup>. En cultivos celulares, concentraciones menores de 1  $\mu\text{g/ml}$  de extracto de cecinas o Quercetina, produjeron un aumento-dosis dependiente en muerte o reparación celular.

VARIABILIDAD INTRATALINA DE COMPUESTOS FENOLICOS EN *Stereocaulon alpinum* LAUR. (Intrathaline variability of phenolic compounds in *Stereocaulon alpinum* LAUR.) Arias, W., Hidalgo, M.E., Peña, W., Fernández, E. y Quilhot, W. Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

Se considera a los fenoles líquénicos compuestos claves en la regulación del estado simbiótico. Su distribución y tasas de acumulación en los estratos talinos se relacionan con a) protección del fotobionte frente a radiaciones de alta energía, b) incremento de la radiación útil para la fotosíntesis, c) reservas energéticas en situaciones de estrés nutricional. Estos mecanismos de regulación interna adquieren mayor relevancia en líquenes que habitan áreas geográficas con climas rigurosos, especialmente en los muy fríos.

*Stereocaulon alpinum* LAUR. es una especie frecuente en la Península Antártica e islas adyacentes, que acumula los fenoles ácido úsnico, atranorina y ácido lobárico. En colonias recolectadas en Isla Robert, se determinó la variabilidad de las concentraciones de estos metabolitos, en talos sectorizados en clases de edad, mediante la técnica HPTLC.

El ácido úsnico alcanza concentraciones inferiores al 0,2% peso seco en algunos sectores apicales y basales; en otros no fue detectado. Las concentraciones de atranorina -entre 0,21 y 5,10%- y las de ácido lobárico -entre 0,24 y 3,42%- fueron significativamente más elevadas en los tejidos jóvenes.

Atranorina y ácido úsnico son los metabolitos más frecuentes en líquenes antárticos. La distribución localizada de los fenoles en los tejidos jóvenes y el rol asignado por su interacción con la luz, representa ventajas para la especie. El ácido lobárico, que no posee propiedades fluorescentes, podría ser catabolizado y utilizado en nuevos procesos de síntesis, como se ha propuesto para otros fenoles líquénicos.

Proyecto 110 Instituto Antártico Chileno.

ORGANOGENESIS DIRECTA EN ARANDANO *Vaccinium corymbosum* L. y *Vaccinium ashei* READE. ESTUDIOS HISTOLÓGICOS Y REGENERACIÓN "IN VITRO". (DIRECT ORGANOGENESIS IN BLUE BERRY (*Vaccinium corymbosum* L. & *Vaccinium ashei* READE). HISTOLOGICAL STUDY AND IN VITRO REGENERATION.

Arce, P., Alarcón, J., Gutiérrez, A., Reyes, A. y Jordán, M. Programa de Micropropagación Vegetal, Facultad de Agronomía y Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

El arándano es una especie frutal de grandes perspectivas económicas, recientemente introducida en Chile. Puesto que esta especie presenta una restricción fitosanitaria a su ingreso al país, por estar exótica al hongo *Phomopsis* sp., se han desarrollado metodologías de micropropagación con el fin de contar con plantas sanas. Alternativamente se puede intentar obtener individuos con características genéticas nuevas mediante variación somaclonal "in vitro". En este trabajo se evaluó la capacidad de regeneración somática y organogénesis directa a partir de secciones de lámina foliar en 3 variedades de arándano. Se consiguió inducir la proliferación de brotes a partir de hojas seccionadas unidas al explante madre con altas dosis (10 mg/Lt) de Isopentil adenina. Láminas foliares aisladas no indujeron formación de brotes en estas mismas condiciones. Cortes histológicos mostraron que la zona de la nervadura de la lámina foliar origina el primordio y posterior brote.

Financiado Proyecto FNUD-CHI 88/006.

CAPTACION Y METABOLISMO DE Zn(II) POR CELULAS DE LEYDIG Y ESPERMATIDAS DE RATA. (Zinc uptake and metabolism by rat Leydig cells and spermatids).

Arrate, P. y Reyes, J.G., Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso y Depto. Fisiología y Biofísica, Facultad Medicina, Universidad de Chile.

Dos aspectos de la fisiología testicular que dependen de la disponibilidad de zinc a nivel celular son: la esteroidogénesis en las células de Leydig y, la condensación de la cromatina y funcionalidad de los espermatozoides. Este efecto del zinc en el estado funcional de células de Leydig y Espermátidas requiere la interacción y transporte de este ión por estas células. Hemos estudiado entonces la captación de Zn(II) por células de Leydig y espermátidas de rata en suspensión usando  $^{65}\text{Zn(II)}$ . Nuestros resultados indican que las células de Leydig poseen una capacidad de captación de Zn que es aproximadamente 10x la capacidad de captación de Zn por espermátidas. En medio Krebs-Henseleit, en ambos tipos celulares de captación de zinc posee un componente cinético rápido ( $t_{1/2} \approx 1\text{min}$ ) sin evidencia de componentes de captación lentos. Experimentos con cambios de volumen intracelular permiten identificar un compartimento de Zn(II) en equilibrio rápido con  $\text{H}_2\text{O}$  intracelular, y posibles compartimentos de unión a estructuras celulares.

Financiado por Grant RF 8905, Fund. Rockefeller y Proyecto 125.745/89 UCV.

¿ES EL CARÁCTER BÁSICO LA ÚNICA CONDICIÓN PARA LA TOXICIDAD DE LAS FOSFOLIPASAS A<sub>2</sub> DE VENENOS DE SERPIENTES? (Is the basic character the only feature involved in toxicity in snake venom phospholipases A<sub>2</sub>?) Arriagada, E. Depto. de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

Es generalmente aceptado que las fosfolipasas A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) de venenos de serpientes presentan una relación directa entre toxicidad y carácter básico. Sin embargo, el análisis del comportamiento de las PLA<sub>2</sub> de venenos de los grupos I, IIA y IIB (Heinrikson), indican la necesidad de hacer una correlación entre características estructurales, basicidad y accesibilidad en los sitios tóxicos propuestos para las distintas PLA<sub>2</sub>. Con tal objeto y basándose en un modelo estructural obtenido por predicción de estructura secundaria, se realizó:

- un análisis de la ubicación de los aminoácidos básicos y de su entorno en la molécula.
- un estudio de correlación entre el carácter básico efectivo y toxicidad, y
- un análisis de accesibilidad o disponibilidad de las regiones que presentan estos residuos básicos para interaccionar con las membranas.

Los resultados obtenidos indican que si bien hay una relación directa entre el carácter básico y la toxicidad de las PLA, estudiadas, la potencia tóxica depende de la densidad de carga en sitios específicos, restricciones conformacionales y otros parámetros estructurales que influyen la afinidad entre estas PLA<sub>2</sub> y las membranas.

Proyecto 20.31.12, Dirección de Investigación, Universidad de Concepción.

FACTORES SERICOS INHIBIDORES DE IgE (IgE inhibitor serum factors). Astorguiza, M.I., Droguett, M.A. y Valdés, M. Instituto de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.

Previamente hemos demostrado que el suero de ratón posee un factor regulador isotipo específico para IgE, el cual se une a esta inmunoglobulina bloqueando su acción biológica. En el presente trabajo se inicia la caracterización de un factor con propiedades similares presente en el suero humano.

Se realizó pool de sueros humanos que presentaban la capacidad de inhibir la reacción de anafilaxis cutánea pasiva (PCA), mediada por IgE de ratón. A partir de éste se separó la fracción activa por precipitación con sulfato de amonio. Se determinó su PM por cromatografía de filtración en gel, presencia de carbohidratos por afinidad a lectinas y estabilidad a la temperatura.

Los resultados indican que el PM del factor presente en suero humano es menor que el factor de ratón. Ambos presentan similar estabilidad a la temperatura y afinidad a lectinas. A diferencia del factor de ratón, el humano está presente sólo en algunos de los sueros analizados.

Se discute la relación entre ambos factores.

Financiado por Proyectos TWAS RG BC 87-96, DID-UACH RS-86-31 y FONDECYT 0886-88.

LOCALIZACIÓN CITOQUÍMICA DE PEROXIDASA DURANTE EL PROCESO DE INTERNALIZACIÓN DE *Tritrichomonas foetus* POR MACROFAGOS (Cytochemical localization of peroxidase during interiorization of the *T. foetus* by mouse macrophages). Azevedo, N.L., Silva Filho, F.C. and De Souza, W. - Instituto de Biologia, UERJ and Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ, Rio de Janeiro.

*T. foetus* is a mucosal parasite of cattle where it can be found in contact with phagocytes. The *T. foetus* host phagocytes relationships are poorly understood being that no data are available on the interaction of the parasite with macrophage. In the present study the "in vitro" interaction of *T. foetus* (K strain) with mouse resident macrophage was studied by associated with transmission electron microscopy and attempts were done in order to know the mechanisms by lectin-treatment renders the parasites more adherent to the phagocyte surfaces. In order to improve the adhesion of parasites to the macrophage surface the former were previously treated with 20  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  Concanavalin A. After 60 min of interaction most of parasites could be found adhered to the macrophages being that some of them had been interiorized. Activity of peroxidase-colloidal gold particles could be detected in the macrophages which contained parasites. The parasite's surfaces treated with Con A are more adhesives to the macrophages than the untreated ones. Their surface tension and zeta-potential were determined. 20  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  Con A became the parasite's surface slightly less negative and more hydrophobic, as suggested by contact angle measurements performed with the highly apolar liquid -bromonaphthalene. The results are indicating that the presence of parasites into macrophages comes from an endocytic process performed by the phagocytes. Supported by: CNPq, CAPES, FINEP and CEPG-UFRJ.

UTILIZACIÓN DE GLUCOSA POR CEPAS DE *E. coli* CON NIVELES ELEVADOS DE ALDOLASA. (Glucose uptake by *E. coli* strains with high levels of aldolase). Babula, J. y Frankel, R.E. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Harvard Medical School, EE. UU.

En una vía metabólica hay reacciones que se encuentran alejadas del equilibrio porque las enzimas que las catalizan no son lo suficientemente activas para lograr el equilibrio entre los sustratos y los productos. Una de las estrategias para estudiar las enzimas que restringen el flujo de una vía es determinar el efecto de la variación de sus niveles en las concentraciones de intermediarios y el flujo total por la vía. Con el fin de averiguar el efecto de los niveles de aldolasa en la vía glicolítica, se procedió a medir la utilización de glucosa, la concentración de dihidroxiacetona-P (DHAP) y fructosa-1,6-bis-P (FBP) en cepas de *E. coli* clonadas con actividades de aldolasa cinco veces (fba-3) y 30-40 veces (fba-40) mayores que las cepas control (fba-1).

Las células se crecieron aeróbicamente en un medio completo hasta la fase logarítmica temprana, se resuspendieron en medio mínimo y se incubaron a 30° en presencia de nitrógeno, glucosa 0,2% y cloranfenicol, en un volumen de 4-10 el. La concentración de glucosa se midió con la glucosa oxidasa en el líquido sobrenadante de la suspensión celular y la concentración de DHAP y FBP se midió en extractos perclóricos neutralizados siguiendo la oxidación de NADH después de agregados sucesivos de glicero-P deshidrogenasa, triosa-P deshidrogenasa y aldolasa.

No se observaron grandes diferencias en la utilización de glucosa entre fba-1, fba-3 y fba-40. Los niveles de DHAP y FBP de fba-3 fueron iguales a los de fba-1; los de DHAP de fba-40 fueron tres veces los de fba-1 y los de FBP la mitad de los de fba-1. Esto sugiere que la reacción que cataliza la aldolasa no tiene una participación importante en la regulación de la vía glicolítica.

Financiado por Harvard Medical School y Fondecyt.

**LOCALIZACIÓN DEL MECANISMO DE FOTOTRANSDUCCIÓN EN FOTORECEPTORES DE LIMULUS.** (Localization of the phototransduction mechanism in Limulus photoreceptors). J. Bucigalupo y E.C. Johnson. Depto. de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Marshall Univ. School of Medicine, Dept. of Physiology Huntington Wv. USA.

El caso de los fotoreceptores ventrales de Limulus está subdividido en dos lóbulos, el retinómico (R) y el arabinómico (A). Usando diversas técnicas espaciales se ha demostrado previamente que la fototransducción ocurre en el lóbulo R, donde se encuentran las microvelocidades que contienen la rodopsina. Usando estimulación luminosa focal se demostró que en el lóbulo R se localiza la sensibilidad a la luz de estas células, mientras que el lóbulo A es insensible a la luz y que el efecto de adaptación a la luz producida localmente en el lóbulo R se propaga solo a un área pequeña de este. La conductancia activada por la luz también se localiza en el lóbulo R. Nosotros hemos estudiado el grado de compartimentalización de la fototransducción en el lóbulo R usando vesículas obtenidas de este lóbulo de dos maneras distintas. Una consistió en remover de la célula un microelectrodo intracelular lleno de HCl 0.3 M mediante un deslizamiento lateral de este. Esto deja en la punta del microelectrodo una vesícula de aproximadamente 1  $\mu$ m de diámetro. De esta vesícula registramos, en respuesta a estímulos luminosos, potenciales de receptor que tienen la misma forma de la respuesta macroscópica, pero con una amplitud máxima de aproximadamente 2 mV. También obtuvimos respuesta a la luz de vesículas de lóbulo R que ocasionalmente se forman en pipetas de patch-clamp, al retirarse la pipeta de la célula en presencia de cationes divalentes, las respuestas a la luz generadas por estas vesículas son también de forma semejante a la macroscópica. En ambos casos se reconocen claramente la fase transitoria de la respuesta y la fase mantenida de menor magnitud que le sigue cuando la célula se ha adaptado a la luz, que son propios de la respuesta macroscópica. Estos resultados demuestran que en un volumen muy pequeño de la célula proveniente de las proximidades de la membrana plasmática están contenidos los componentes necesarios para que se lleven a cabo los procesos de excitación y adaptación a la luz.

(1) Stern et al., 1982. J. Gen. Physiol. 80: 825

(2) Payne and Fein. 1983. J. Gen. Physiol. 81: 767.

(3) Bucigalupo and Lissman. 1983. Nature 304: 258.

Financiado por proyecto NSF INT-8610623.

**EFFECTOS DEL AMBIENTE TÉRMICO SOBRE EL PATRÓN TERMORREGULATORIO: *Callinectes palluma*** (Effect of the thermal environment on the thermoregulatory pattern: *Callinectes palluma*). Baez C. Departamento de Biología y Química Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena. (Patrocinio S. Zepeda)

Las variaciones del ambiente térmico originadas por los cambios estacionales afectan la actividad de las diferentes especies de lacértidos. *C. palluma*, es una especie que está activa sólo durante los meses de mayor radiación solar, manifestando una actividad temporal notablemente restringida en comparación con otras especies. Este patrón de actividad circannual, sería consecuencia de una limitancia termorregulatoria determinada principalmente por la elevada termofilia y estenotermia, obligándolo a permanecer en dormancia durante los meses de baja oferta térmica.

A fin de testar la hipótesis planteada se cuantificó, el metabolismo estándar (SMR) y la temperatura corporal preferencial (PTB) bajo diferentes condiciones de oferta térmica.

Los resultados obtenidos indican que la PTB registrada en verano fue de  $39,2 \pm 0,42$  C, valor que no difiere del registrado en invierno ( $39,1 \pm 0,48$  C), bajo condiciones térmicamente óptimas. No obstante, en condiciones de baja oferta térmica la PTB disminuye considerablemente ( $34,3 \pm 0,42$  C) al igual que SMR, siendo sólo un 45% del SMR registrado bajo condiciones térmicas óptimas. Los resultados indican que *C. palluma* presenta una elevada termofilia y estenotermia, lo que dificultaría la actividad durante la temporada de otoño-invierno. Manifestando durante dicho período una dormancia, posiblemente de tipo facultativa. (Financiado: DIULB 130-2-33/89).

**EXTRACCIÓN SELECTIVA Y ANÁLISIS ELECTROFORETICO DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA DE ESPERMATOZOIDES DE RATA.** (Selective solubilization and electrophoretic analysis of proteins from rat sperm membrane). Barbieri, M.A., Bertini, F. IHEM-CONICET, Fac. Cs. Médicas, Univ. Nacional de Cuyo. C.C/56, Mendoza(5500), Argentina.

Se piensa que la maduración del espermatozoide en el epidídimo involucra la interacción de proteínas de la membrana del espermatozoide con otras secretadas por ese órgano.

Es entonces oportuno conocer no sólo la composición sino el grado de afinidad que tienen las proteínas con la membrana plasmática del espermatozoide. Con ese fin hemos analizado en geles de poliacrilamida-SDS las proteínas de extractos de membrana de espermatozoides del cauda epididimal obtenidas en forma secuencial con agentes fisicoquímicos de creciente poder de solubilización.

Un tratamiento de las membranas con buffer tris-ClH de baja fuerza iónica (pH:7.4) extrajo 4 proteínas importantes de 24, 37, 54 y 59 kD respectivamente. El buffer de NaCC<sub>3</sub>H (pH:11) extrajo las mismas proteínas, pero en mayor cantidad con excepción la de 37 kD que fue muy débil. El buffer acetato (pH:4.5) por el contrario extrajo baja cantidad de esas proteínas. Finalmente el ClK 0.6M extrajo además de las anteriores, una de alto peso molecular. Todas estas proteínas son consideradas extrínsecas con distinto grado de afinidad.

Dos nuevas bandas aparecieron en el gel cuando las membranas fueron tratadas con triton X-100 y que se consideran intrínsecas. En total se constata la presencia de 25 bandas y se estima que el 50 % son periféricas.

**ANTICUERPOS ANTI-PORINAS DE *Salmonella typhi* INDUCIDOS EN ENFERMOS DE FIEBRE TIFOIDEA.** (Antibodies induced against *Salmonella typhi* porins in typhoid patients) Barnier, R. y Mora, G.C. Laboratorio de Microbiología, Unidad de Microbiología y Genética Molecular, Fac. Cs. Biológicas. P. Universidad Católica de Chile.

En nuestro laboratorio hemos demostrado que los pacientes de fiebre tifoidea desarrollan una alta respuesta de anticuerpos contra porinas de *S. typhi*, medida por ELISA. Como una forma de acercarnos a definir el curso de la patología hemos querido caracterizar esta respuesta mediante la técnica de inmunoblot.

Uno de los principales problemas que se nos presentó en el desarrollo del estudio es el efecto de los anticuerpos dirigidos contra el LPS, los cuales ocultan cualquier otra respuesta específica dirigida contra las proteínas de la membrana externa. Para superar este problema fue necesario adsorber exhaustivamente los sueros de pacientes con LPS purificado de *S. typhi*.

De esta manera, obtuvimos una fuerte reactividad contra trimeros de porinas y más débil contra los monómeros, indicando que la respuesta está dirigida contra la porina en su forma nativa ya que los trimeros son lo que más se asemeja a ésta. También hemos observado que la respuesta está principalmente dirigida contra la porina OmpC, indicando que probablemente la bacteria no expresa la porina OmpF en las condiciones presentes en el hospedero.

También estudiamos la respuesta contra la porina OmpC de *S. typhi* clonada en *E. coli* y con fragmentos peptídicos de ésta, definiendo así una región inmunodominante que correspondería a una de las zonas expuestas de la proteína.

Finalmente hemos comparado la reacción por inmunoblot con las proteínas de la membrana externa de otras especies y los resultados demuestran que la respuesta es específica para la porina OmpC de *S. typhi* presentando una baja reactividad cruzada contra porinas de *S. typhisurium* y prácticamente ninguna con porinas de *E. coli*.

Financiado por los proyectos FONDECYT 2026/87, DIUC 16/88 y FONDECYT 619/89.

EVIDENCIAS DE CAMBIOS CONFORMACIONALES INDUCIDOS EN PROTEÍNAS POR UN CAMPO ELÉCTRICO EXTERNO. (Evidences of conformational changes induced in proteins by an external electric field) L. Barros e H. Cid. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

Evidencias de cambios conformacionales inducidos por un campo eléctrico externo en macromoléculas biológicas han sido descritos para bacteriorodopsina, subfragmento S1 de miosina y, recientemente, en ADN.

Cuando la  $\beta$ -lactamasa I de B. cereus es purificada por 2 métodos diferentes (cromatografía y electroforesis preparativa), presenta diferencias en su comportamiento cinético, espectral, sensibilidad a cambios de temperatura y susceptibilidad a inactivación por yodo. Estas diferencias pueden explicarse por un cambio conformacional ocurrido en una de las muestras, posiblemente inducido por la influencia de un campo eléctrico externo al que ha sido sometido durante los procesos de electroforesis y electroelución. De acuerdo a los espectros de absorción al UV, este cambio conformacional implicaría la exposición de algunos residuos de tirosina y/o triptófano.

Para establecer que el cambio observado se debe realmente a la acción del campo eléctrico se han realizado los siguientes estudios:

- 1) separación de la influencia del C.E. durante el período de electroforesis del de la electroelución.
- 2) Utilizando una cubeta especialmente diseñada, se ha estudiado el efecto de la intensidad del C.E. y del tiempo de exposición de la muestra a éste, medido por los cambios en el espectro UV.

Proyecto 20.31.12 (Dirección de Investigación, Universidad de Concepción).

Proyecto 89/87 FONDECYT.

EVALUACION DE LA GENOTOXICIDAD DEL LINDANO Y HEPTACLORO MEDIANTE EL ENSAYO DE MICRONUCLEO VEGETAL. (Genotoxicity evaluation of Lindane and Heptachlor by plant micronucleus assay). Bastfas, J. y Guerrero, C. Depto. Agro-Indus., Fac. Recursos Naturales, Universidad del Bio-Bio.

(Patrocinio: R. Godoy-Herrera).

Los pesticidas organoclorados han tenido un éxito indiscutido en el control de plagas que menoscaban la producción agrícola y enfermedades producidas por insectos al hombre y animales domésticos, sin embargo, su utilización debe disminuirse al máximo por tratarse de compuestos químicos que persisten en la naturaleza y que por ello son susceptibles a biomagnificarse, con un alto grado de toxicidad en animales y, en general, por mostrar muchos de ellos un elevado efecto mutagénico. En relación con lo último creemos interesante estudiar el potencial mutagénico de Lindano y Heptacloro evaluando la inducción de micronúcleos (MN) en células proliferantes de ápices radiculares de Chlorophytum comosum (Liliaceae).

Se separaron tres grupos de plántulas: a) controles, b) tratadas con  $3 \times 10^{-6}$  M de Lindano y c) tratadas con  $3 \times 10^{-6}$  M de Heptacloro. Las raíces fueron cortadas y fijadas cada 2hrs. hasta completar 24 horas, procediendo a confeccionar los preparados de acuerdo a la técnica convencional de aplastamiento.

Los resultados indican que los pesticidas en estudio inducen la aparición de MN durante todas las horas de tratamiento, existiendo un alto grado de correlación ( $r=0,97381$ ) en la formación de MN en los dos grupos de tratamiento (b y c).

Financiado parcialmente por proyecto 89-3114 Universidad del Bio-Bio.

CRYPTOPHYCEAE EN LAGUNA GRANDE DE SAN PEDRO, VIII REGION CHILE. I.- MORFOLOGIA BAJO LA MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO. (Cryptophyceae in Laguna Grande de San Pedro VIII Región, Chile. I.- Morphology under the Scanning Electron Microscopy). Basualto, S. y Parra, O. Departamento de Botánica, Fac. de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

El grupo de las Cryptophyceae es un importante componente de las comunidades fitoplanctónicas dulceacuícolas. Sin embargo, debido al reducido tamaño celular (formas nanoplantónicas) su identificación a nivel específico con el microscopio fotónico resulta difícil, ya que muchos caracteres morfológicos quedan fuera de la resolución de este instrumento.

Por tal motivo se utilizó la microscopía electrónica de barrido, para una visualización más detallada del periplasto y surco apical, caracteres taxonómicos importantes en la identificación de especies de este grupo.

El uso de esta metodología permitió identificar las especies de los géneros Rhodomonas, Cryptomonas y Pseudocryptomonas presentes en Laguna Grande de San Pedro y posterior Cuantificación y estimación de la biomasa del grupo. Este trabajo preliminar revela el potencial de la microscopía electrónica de barrido en estudios de taxonomía algal y limnología.

DESARROLLO POSTNATAL DE LA INERVACION NORADRENERGICA DEL UTERO DE LA RATA. (Postnatal development of the noradrenergic innervation of the rat uterus). Brauer, M.M., Peluffo, E. y Scorza, M.C. División Biología Celular, I.I.B.C.E., Montevideo, Uruguay.

La inervación noradrenérgica del útero de la rata ha sido objeto de numerosos estudios. A pesar de ello existe controversia respecto de su presencia, distribución y significado funcional, a lo que se suma una casi total ausencia de información sobre las características de esta inervación durante el desarrollo. Con el propósito de aclarar algunos de estos interrogantes hemos analizado el útero de la rata en tres diferentes edades postnatales (30, 60 y 90 días; n = 30) mediante la técnica del ácido glicólico para la demostración de fibras y terminales noradrenérgicos en cortes y extendidos de tejido (whole mounts). A los 30 días se observa una abundante inervación asociada a los vasos sanguíneos, a las fibras musculares lisas circulares y longitudinales del miometrio y algunas fibras penetrando en el endometrio. En el mesometrio además de una rica inervación peri y paravasculares se observan fibras libres en el mesenterio y asociadas al músculo liso. A los 60 y 90 días el mesometrio muestra un aspecto similar al observado a los 30, pero dentro del cuerno uterino las fibras aparecen fundamentalmente asociadas a los vasos sanguíneos. Desde su localización paravasculares algunas fibras se dirigen al músculo liso longitudinal pero la capa circular y el endometrio aparecen casi totalmente desprovistos de fibras. Este aparente decaimiento de la inervación noradrenérgica podría sugerir que dicha inervación cumple su rol fundamental durante el período prepupal, posiblemente ejerciendo influencias tróficas sobre el útero en desarrollo.

EL BLOQUEO DE LA PROGRESION AXOPLASMICA INDUCE LA APARICION DE CANALES SK EN MUSCULO ESQUELETICO. Baltrami M. I. y Veraara C. Centro de Estudios Científicos de Santiago, Casilla 16433, Santiago y Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago.

El potencial de acción en músculo denervado es seguido por una hiperpolarización tardía que es mediada por canales de K de baja conductancia activados por calcio (canales SK). Estos canales se bloquean con alta afinidad por apamina, una toxina de abeja. Determinaciones de unión de apamina <sup>125</sup>I muestran que estos canales no se detectan en músculo innervado y aparecen con la denervación. Por esto se ha sugerido que los canales SK de músculo están regulados por el nervio. En este trabajo se muestra que la regulación neural del número de canales SK en el músculo esquelético se debe a un factor neurotrófico. El transporte axoplásmico del nervio ciático de ratas se bloqueó mediante la aplicación de colchicina a la altura del surco isquiático. En los controles se aplicó solución tampón. A diferentes tiempos (8 a 30 días) después de la aplicación de colchicina se midió la unión de apamina <sup>125</sup>I a fracciones de membrana de músculos de la pata posterior. Se midió en membranas purificadas de túbulo T (Rosenthal y cols. 1981 J. Biol. Chem. 256: 8140-8148) y en una fracción enriquecida de membrana superficial que se obtuvo por una modificación del método de Scapira y cols. (1974, BBActa 345: 348-358), que consistió en reemplazar la incubación de 12 hrs. en LiBr 0,4 M por una incubación de 45 min. con heparina y colagenasa. La unión máxima de apamina en músculos tratados con colchicina fue de 4,0 fmoles/mg proteína en la fracción enriquecida en membrana superficial y de 1,3 fmoles/mg proteína en el túbulo T. En los controles no se detectó unión de apamina. En el músculo denervado la unión fue de 14,0 y 5,9 fmoles/mg proteína en la fracción enriquecida en membrana superficial y túbulo T respectivamente. En presencia de saponina que expone todos los sitios de ligando los valores de unión son 22,8 y 9,35 fmoles/mg proteína para las dos membranas denervadas. Los resultados sugieren que la expresión de los canales SK de músculo esquelético es regulada por un factor neural que llega al músculo por transporte axoplásmico. Los canales SK estarían localizados en las dos membranas estudiadas con preferencia por la membrana superficial.

Financiado por FONDECYT 256-89 y NIH BN 32981.

VARIACIONES ESTACIONALES EN ABSORCIÓN INTESTINAL DE *L. nitidus* (IGUANIDAE). (Seasonal variation in intestinal absorption in *L. nitidus* (Iguanidae)). Baltrami, M., Iturri-B.J. y Peña, A. Depto Biología, Univ. Metrop. de Cs. de la Educ. y Depto. Cs. Ecológicas, Facultad de Ciencias, U. Chile.

*L. nitidus* es una especie de amplia distribución geográfica con hábitos alimentarios preferentemente insectívoros, con tendencia a la herbivoría en adultos. Requieren para conseguir su alimento y posterior digestión y absorción una temperatura (T) de actividad de 35 °C. Las diferencias estacionales en la T corporal que presentan algunos lagartos parecen relacionarse con intervalos cíclicos estacionales debido a cambios hormonales. El objetivo del presente trabajo es establecer diferencias estacionales en la tasa de absorción intestinal de *L. nitidus* como consecuencia de los cambios de niveles de tiroxina. Grupos de individuos normales, tiroprivos químicamente (propiltiouracilo: 0,02 µg en 0,1 ml i.p.) y normales inyectados con tiroxina (T4) exógena: 0,02 µg en 0,1 ml durante 14 días, se sacrificaron por decapitación. Sacos evertidos de intestino se incubaron a 35 °C en un baño con sol. fisiológica conteniendo D-Glucosa (10, 20, 40 mM) y L-Tirosina (2; 3,5; 5 mM). El transporte de estos compuestos se midió determinando el aumento de concentración en el interior del saco durante 2 h por períodos de 30 min. Los resultados muestran que los individuos tiroprivos presentan una disminución en la velocidad de absorción comparados con el grupo control. En cambio, el grupo inyectado con T4 exógena presenta un marcado aumento en relación a los anteriores. Además se observa diferencias importantes en la absorción entre los individuos de verano y los de invierno.

CARACTERIZACION DE LA LIBERACION DE 3H-NORADRENALINA DESDE LA CORTEZA CEREBRAL DE LA RATA. (Characterization of 3H-noradrenaline release from the rat cerebral cortex). Belmar J., Galleguillos X., Parada S. y Forray M.I. Laboratorio de Farmacología-Bioquímica, Unidad de Neurotransmisión Química, Departamento de Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile.

En la corteza cerebral (cc) se encuentra un alto número de neurotransmisores (NTs). Sin embargo, algunos de ellos como la noradrenalina (NA), podría tener un papel más bien modulador. Esta posibilidad hace necesario replantear la caracterización de algunos de ellos y de procesos fundamentales de la neurotransmisión química, como el de liberación. En este trabajo se presentan resultados de estudios sobre factores que modifican los niveles de NA y la liberación de 3H-noradrenalina (3HNA) usada como trazador del NT endógeno.

En la corteza occipital (CO) de animales en diferentes edades y etapas del ciclo estral (CE) se midieron los niveles de NA por HPLC con detección electroquímica. En cortes obtenidos de CO y de otras regiones, se midió tanto la liberación basal como la inducida por estímulos despolarizantes con K<sup>+</sup>, de 3HNA recién incorporada.

La liberación inducida varía con la edad, la región de la CC y la etapa del CE. Es muy alta en los primeros días de edad y luego decrece. En hembras adultas resultó mayor en la corteza frontal. En la CO se liberó más 3HNA durante el estro. No parecen haber variaciones debido al CE de los niveles de NA.

Financiado por FONDECYT Proyecto 89-0490.

CRIO-FRACTURA DE *Trichomonas vaginalis* (Freeze-fracture of *Trichomonas vaginalis*). Benchamol, M. & De Souza, W. - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

In replicas of freeze-fractured membranes the inner part of the cell membrane is exposed allowing the examination of either the inner or the outer membrane halves. The present report describes the structure of *Trichomonas vaginalis*, a pathogenic protozoa of the urogenital tract of human. For the experiments, cells were grown in TYM medium, washed once and fixed for 2 h at room temperature in 2,5% glutaraldehyde in 0,1M cacodylate buffer. After fixation, the cells were rinsed in buffer, impregnated during 30 min with glycerol in cacodylate buffer up to a concentration of 30%, mounted on Balzer's support disks and rapidly frozen in the liquid phase of partially solidified Freon 22. Freeze-fracture was carried out at -115°C in a Balzer's apparatus equipped with a turbomolecular pump. The material was shadowed, cleaned, mounted on grids and examined with a Jeol 100 CX electron microscope. *T. vaginalis* plasma membrane revealed a marked heterogeneity in the size and distribution of membrane particles, where the P-face presented a higher density of membrane particles than the E-face. A large number of areas of pinocytosis were seen through the plasma membrane. The flagellar membranes (except of the recurrent flagellum) presented clusters of 7-13 intramembranous particles, forming rosettes. On the P face of the membrane of the recurrent flagellum, organized arrays of particles, arranged as 4 ribbons were localized only in the portion of the flagellum facing the body and following the long axis of the flagellum. It was possible to see many membrane-banded-organelles, and in some cases, double membrane bounded-organelles, probably hydrogenosomes.

Supported by CNPq and FINEP.

ANALISIS ULTRAESTRUCTURAL DE LAS CELULAS SOMATICAS DEL TESTICULO DE *Micropogonias furnieri*. (Ultrastructural analysis of somatic cells in the testis of *M. furnieri*).

Berois, N., Casanova, G. y Brauer, M. Departamento de Biología Celular. Facultad de Humanidades y Ciencias. Universidad de la República. Uruguay.

Con respecto a la dinámica espermatogénica, se han descrito para los Peces Teleosteos, dos modelos de organización (Grier et al, 1980). La especie en estudio, segundo recurso pesquero para Uruguay, presenta el modelo de organización denominado espermatogonial no restringido.

Con el fin de analizar los elementos somáticos se ha procesado el material colectado en diferentes épocas del año, según la rutina para microscopía electrónica de transmisión. Se describen los constituyentes del compartimiento intertubular con especial énfasis en la localización de las posibles células esteroidogénicas. Las células mioideas (LBC) se reconocen por su ubicación y diferenciaciones citoplásmicas. También se aportan mayores detalles a los ya descritos por nosotros (Radmilovich et al, 1988) sobre la única célula intratubular, la célula de Sertoli, la cual presenta abundantes cuerpos residuales y uniones desmosómicas con sus vecinas.

En base a la ultraestructura de las diferentes células estudiadas se discute el posible sitio de síntesis de los esteroides para esta especie.

EFFECTO DE LA CASTRACION, TESTOSTERONA Y DEXAMETASONA SOBRE LA ACTIVIDAD DE CITOCROMOS C OXIDASA Y P450 EN ADRENAL DE RATAS ADULTAS MACHOS. (Effect of the castration, testosterone and dexametason on cytochrome c oxidase and cytochrome P450 activities in male adrenal rats). - Bianchi, R., Piezzi, R., Sarron, G., Souto, M. and Fogal, I. Instituto de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Médicas. U.N.Cuyo. Mendoza. Argentina.

Se han observado importantes diferencias en glándulas adrenales de machos adultos en relación con la administración de diferentes drogas, en numerosas condiciones experimentales. (Colby, '72; Kitay, '64; Malendowicz, '74).

Es conocido además que la castración provoca incremento en el peso y volumen adrenal. El objeto del presente trabajo fue estudiar la actividad enzimática específica de las citocromos c oxidasa y P 450, como índices de actividades respiratoria-mitocondrial y esteroidogénica.

Se usaron cuatro grupos de animales: controles (G1), castrados (G2), castrados tratados con testosterona (G3) y castrados tratados con testosterona y dexametasona (G4). Los métodos utilizados en corteza adrenal fueron: Cooperstein y Lazarow ('51) para citocromo c oxidasa y Omura y Sato ('64) para citocromo P 450. Los resultados fueron los siguientes: En citocromo c no se observan diferencias significativas ( $p < 0.5$ ) entre los grupos G1, G2 y G4. La máxima actividad se encontró en G3 ( $p < 0.001$ ). En citocromo P450 no se observan diferencias significativas entre G1 y G3, en cambio G2 y G4 mostraron diferencias significativas ( $p < 0.001$ ) con respecto a los controles. G4 mostró el 52% de la actividad enzimática del control.

En conclusión: el efecto inespecífico de la testosterona en la citocromo c oxidasa o el específico de la misma hormona sobre citocromo P450 estarían controlados por la secreción de ACTH hipofisiaria. Los resultados presentados proporcionan nuevas evidencias de la relación entre las funciones respiratoria mitocondrial y esteroidogénica corticoadrenal y la gonadal de ratas machos adultas.

EFFECTO DE BAJO SODIO EXTRACELULAR EN LA RESPUESTA A ANGIOTENSINA EN CELULAS DE GLOMERULOSA ADRENAL (Effect of low Na external on AII response in adrenal glomerulosa cells). Bonilla, S., Parra, C. y Lobo, M. V. Dpto. Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Con el propósito de estudiar si una disminución en la concentración de sodio extracelular cause alteraciones en el metabolismo del calcio en células aisladas de glomerulosa de adrenal de bovino y su posible relación con la respuesta a Angiotensina II (AII), se determinó la entrada de calcio midiendo la captación inicial de  $Ca^{45}$  en células incubadas en soluciones isotónicas en las cuales el sodio fue reemplazado ya sea por cloruro de colina o litio o por N-metil-D-glucamina. Además se determinó la velocidad de salida de  $Ca^{45}$  y los niveles de calcio en el equilibrio, al cabo de 3 hrs. de incubación en condiciones de bajo sodio.

Los resultados señalan que el reemplazo de Na externo por cualquiera de los cationes arriba señalados produjo un aumento significativo en la entrada de  $Ca^{45}$ , la cual se vio acompañada de una disminución en la salida de este isótopo. Cuando se midió la permeabilidad al ión K en condiciones de bajo Na, se encontró un aumento significativo con respecto a los valores determinados con Na normal, retornando a estos valores en presencia de bloqueadores de canales de K dependientes de calcio. Al realizar estos estudios en presencia de AII resultó interesante el hecho que esta hormona fue incapaz de inhibir la permeabilidad al K cuando la concentración de Na fue inferior a 25 mM, condiciones en las cuales la respuesta esteroidogénica fue sólo transiente y de menor magnitud que con concentraciones fisiológicas de Na externo.

Se concluye: En células de glomerulosa el Na extracelular afecta el metabolismo del calcio, produciendo tanto un aumento en la entrada como una disminución de la salida de este ión. Como consecuencia del aumento del calcio celular se activan en canales de K dependiente de calcio, los cuales no son inhibibles por Angiotensina como ocurre con Na normal. Se postula que la pérdida de inhibición de la permeabilidad al potasio por AII podría ser la causa por la cual la respuesta esteroidogénica es sólo transiente en condiciones de bajo Na extracelular (Proyecto FONDECYT 53/88).

ANALOGIA ENTRE PEPSANURINA Y BRADICININA (BK). (Analogy between pepsanurin and bradykinin). Boric, M. P. y Roblero, J. S., Depto. de Ciencias Fisiológicas, F.C.C.B., P. Universidad Católica de Chile.

La pepsanurina (PU) es un factor antidiurético liberado por pepsina desde globulinas plasmáticas, su estructura química no es conocida pero es inactivada por quimiotripsina. La administración intraperitoneal (ip) de PU cruda inhibe la acción del Factor Natriurético Atrial y produce acumulación de líquido ip. Este aparente efecto inflamatorio de PU, unido a que pepsina libera procininas a partir del cininógeno, nos hizo estudiar las posibles analogías entre PU y BK.

PU produjo escape de macromoléculas en la microcirculación de mejilla de hamster, al igual que BK. Además PU cruda contiene entre 0.5 a 1.5 ug/ml de material "tipo-cinina" determinado por RIA específico para BK. Se encontró correlación entre el contenido tipocinina y la actividad antidiurética (AAD) de diversos preparados de PU. Por otra parte, PU ultrafiltra por membranas amicon PM-30, pero es retenida por UN-10 y también por Spectrapor/3, estimándose un peso molecular entre 3 y 10 Kd, muy superior a BK.

La administración ip de BK (1 ug/100 g), no tuvo AAD y produjo acumulación de líquido ip, similar a PU activa. Al adicionar BK a PU envejecida (sin AAD pero con igual concentración proteico-oncótica que PU fresca) se observó AAD y mayor acumulación de líquido ip.

PU ultrafiltrada y dializada no produce AAD por vía intravenosa, pero produce vasodilatación de corta duración, similar a la producida por dosis equivalentes de BK según RIA. Sin embargo, a diferencia de lo que pasa con BK, PU no es inactivada en su paso por el pulmón.

Estas evidencias sugieren que PU podría ser (o contener) una procinina de alto peso molecular, que comparte alguna de las propiedades de BK, pero además tiene AAD por vía intraperitoneal, no atribuible a acumulación de líquido ip.

Financiado por Proyecto FONDECYT 642/89.

**MECANISMOS DE TRANSPORTE DE AMINOACIDOS EN GLANDULAS OXINTICAS AISLADAS.** (Mechanisms of the amino acid transport systems in isolated oxyntic glands). Bravo, I., Sobrevía, L., Fuentes, O. y Rojas, S. Dpto. Ciencias Fisiológicas, Fac. Cienc. Biol. y Rec. Nat. Universidad de Concepción.

En publicaciones previas describimos la cinética y especificidad de los sistemas que transportan aminoácidos neutros a nivel de la interfase sangre-tejido en el estómago perfundido. Este trabajo constituye la primera etapa de los estudios realizados en glándulas oxínticas aisladas, con el fin de identificar los sistemas de transporte de L-aminoácidos neutros, acídicos y catiónicos y la membrana involucrada en el proceso.

Glándulas aisladas de la mucosa corpofúndica del conejo fueron incubadas en un medio basal con un aminoácido marcado (aa) con  $H^3$  (15-60 s), centrifugadas y lavadas para medir en el pellet hidrolizado la fracción de aa captado por las células. Alanina y triptófano fueron captados en  $5.3 \pm 0.8$  y  $0.95 \pm 0.04$  ( $nmol \cdot mg^{-1} \cdot min^{-1}$ ),  $10^{-3}$  respectivamente. Después de agregar al medio de incubación alanina no-marcada, un análogo u otro aminoácido se pudo observar que: a) la captación de alanina sigue una cinética de saturación con una  $K_t = 1.42$  mM y  $V_{máx} = 4.33 \times 10^{-3}$   $nmol \cdot mg^{-1} \cdot min^{-1}$ , y b) la captación de alanina fue significativamente inhibida por serina 1mM y en ausencia de  $Na^+$ , pero no por leucina.

Los resultados obtenidos indican que en la membrana basolateral glandular operan sistemas de transporte de aminoácidos sodio-dependientes similares a los característicos de las células eucarióticas, tal como se encontró en estómago perfundido.

Financiado por Proyecto D.I. 20.33.38. Con la colaboración de la alumna de 6° año Medicina Srta. Betsabé Fernández.

Dpto. Ciencias Básicas, Universidad del Bfo-Bfo

**ROL DE LAS CELULAS SOMATICAS EN LA EXPRESION DEL SEXO GONADAL DE Calyptraea (Trochita) trochiformis (MOLLUSCA, MESOGASTROPODA).** (Role of the somatic cells in the expression of the gonadal sex of *Calyptraea (Trochita) trochiformis* (Mollusca, Mesogastropoda). Brown D., Depto. Biol. Cely Genética, Facultad de Medicina, U. de Chile.

El hermafroditismo consecutivo protándrico en *C. (T) trochiformis* se expresa en la gónada tempranamente con la espermatogénesis de espermatozoides apirénicos y eupirénicos; y luego de una transición, con la ovogénesis de ovocitos ricos en vitelo, terminal en el ciclo de vida. En el esbozo gonádico del compartimento gametogénico, las células somáticas formarían un epitelio, separador de células germinales espermatogénicas luminales y ovogénicas basales. Para evidenciar su rol compartimentalizador se procesaron animales indiferenciados, machos en transición y hembras, para M.O. y M.E.T. Se usó lantano como trazador de espacios intercelulares y criofractura para uniones intercelulares. Se hizo R.A.G. usando timidina tritiada como marcador de actividad proliferativa.

Un esbozo gonadal con una célula germinal primordial y células somáticas forma un tubo ramificado. Las células somáticas separan células germinales adluminales y adbasales, formando un epitelio con uniones intercelulares, desmosomas, septadas y uniones de comunicación (gap) desde su ápice. En el macho el lantano llena espacios intercelulares desde basal y luminal, pero no las uniones septadas "pleated y smooth" entre somáticas de Sertoli. Su desorganización transicional y ausencia entre somáticas foliculares que rodean los ovocitos en la hembra, permiten acumulación del lantano. En la espermatogénesis adluminal hay gonias y citos preleptotenos con marca radioautográfica y hacia el final de la fase masculina y transición hay ovogonias basales marcadas; iniciándose la fase femenina.

Las células somáticas compartimentalizarían a germinales en un microambiente luminal espermatogénico y uno basal ovogénico, donde tienen una proliferación diferencial.

Agradeczo al Dr. E. Bustos-Obregón, Unidad Biol. Reprod.

**ESTUDIO SOBRE LA REPRODUCCION Y BIOMETRIA DE Fissurella pulchra.** (Study on the reproduction and biometry of *Fissurella pulchra*.) BRETOS, M., CHIHUAL-LAF, R.H. Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Casilla 54-D, Temuco, Chile.

Entre las lapas que habitan el litoral chileno, es *Fissurella pulchra* una de las especies raras. No se dispone de información acerca de la biología de estos moluscos. Se ha emprendido el presente trabajo con la finalidad de aportar los primeros antecedentes respecto de su reproducción y definir sus características biométricas.

Se analizaron ejemplares recolectados en Huayqui entre Octubre de 1978 y Marzo de 1980. Se determinó el sexo mediante disección, el peso fresco del animal, su concha y su gónada, y las medidas lineales de la concha. El estado reproductivo de cada individuo se evaluó mediante el índice gonadosomático (IGS).

Se obtuvieron ecuaciones para definir cada una de las relaciones morfométricas y gravimétricas del taxón en estudio, con altos índices de correlación. *F. pulchra* presenta sexos separados. La proporción de sexos es de 1:1 entre los individuos sexados, detectándose además 11 especímenes juveniles de sexo indeterminado. No se observaron signos de hermafroditismo ni de inversión de sexos. El IGS promedio por muestreo mostró variaciones, presentando los valores más altos en Abril (otoño) y en Noviembre (fines de primavera).

Las características reproductivas de *F. pulchra* son similares a las que presentan otras especies del género. Los resultados sugieren que estos gastropodos presentan más de un período reproductivo por año en la zona de estudio.

**EFFECTO DE UN BLOQUEADOR BETA ADRENERGICO SOBRE EL TRANSPORTE EMBRIONARIO** (Effect of one beta adrenergic blocker on embryo's transport) Bruneau, M.E. y Chávez, M. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Anteriormente demostramos que el DL-propranolol, administrado por vía intravaginal el día 1 de preñez en la rata, inhibe la implantación. Este efecto podría atribuirse a una aceleración del transporte embrionario.

Para dilucidar esta hipótesis estudiamos el efecto de este beta bloqueador sobre dicho transporte, utilizando cuatro grupos de ratas preñadas de la cepa Sprague Dawley. Los grupos 1 y 2 fueron instilados el día 1 de preñez con 0,2 ml de DL-propranolol 37,5 mM en el cuerno uterino derecho y 0,2 ml de suero fisiológico (SF) en el cuerno izquierdo. El grupo 3 recibió DL-propranolol en ambos cuernos uterinos y se ligó el cuerno derecho en su extremo inferior. Al grupo 4 se le administró la droga en el cuerno derecho, el cual fue ligado, y el cuerno izquierdo fue instilado con SF. Las ratas de los grupos 1, 2 y 3 fueron laparotomizadas en día 5 y se realizó un flushing de los cuernos uterinos para observar los embriones bajo microscopía óptica (grupo 1 a las 8:00 hrs., grupos 2 y 3 a las 11:00 hrs.). El grupo 4 fue laparotomizado el día 9 para visualizar el N° de implantaciones.

A las 8:00 en el grupo 1 no se encontró diferencia entre el N° de embriones provenientes del cuerno tratado (3,0) y del cuerno control (3,6); en cambio, a las 11:00 en el grupo 2 se obtuvo un menor N° de embriones del cuerno tratado (1,2), que del control (3,8). En el grupo 3 se encontró un mayor N° de embriones en el cuerno derecho (2,9) que en el izquierdo (1,9); sin embargo, en el grupo 4 no se encontró implantaciones en el cuerno derecho comparado con un N° normal en el cuerno izquierdo (4,8).

Estos resultados sugieren que el DL-propranolol aceleraría levemente el transporte de embriones en el útero pero lo más relevante es que no implantan, lo cual podría deberse a alteraciones del endometrio.

**INDUCCION DEL PROTO-ONCOGEN C-REL DE RATON POR SUERO Y PMA EN FIBROBLASTOS.** (Induction of murine c-rel protooncogene with serum and PMA in fibroblasts). Bull, P., Hunter, I. y Verma, I.M. Depto. Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile y The Salk Institute, San Diego, CA.

El proto-oncogen c-rel es uno de los proto-oncogenes menos estudiado. Se expresa predominantemente en células linfoides. En este trabajo averiguamos si c-rel es uno de los genes de expresión temprana, es decir, si su expresión se estimula cuando la célula es inducida a entrar en división celular.

Fibroblastos de ratón NIH 3T3 se hicieron quiescentes por inhibición por contacto y privación por suero. Luego se incubaron por tiempos variables con suero fetal de bovino (FBS), cicloheximida (CHX), FBS más CHX, o PMA, posterior a lo cual se extrajo RNA citoplasmático. Se determinó el nivel de expresión de c-rel por protección de RNasa con una sonda obtenida por PCR, y por inmunoprecipitación.

Por incubación con suero, la expresión de c-rel se induce a nivel transcripcional. La inducción es transiente, volviendo los niveles de RNA de c-rel a niveles basales al cabo de tres horas. CHX estabiliza el mensaje de c-rel, observándose una superinducción. CHX por sí sola es capaz de aumentar los niveles de RNA de c-rel, presumiblemente impidiendo la síntesis de un represor lábil. PMA también induce la expresión de c-rel, sugiriendo que este gen está regulado por la vía de la proteína quinasa C.

Se concluye que c-rel es otro miembro de la familia de los genes de expresión temprana. Su RNA tiene una vida media de 1 hr y los niveles de expresión no sobrepasan las 100 moléculas de RNA por célula en condiciones de estimulación.

(Financiado por Fogarty International Center).

**EFFECTO DE ANESTESICOS SOBRE LA ACTIVIDAD DE CANALES DE CALCIO DE RETICULO SARCOPLASMATICO.** (Effects of anesthetics on the activity of calcium channels from sarcoplasmic reticulum). Bull, R. y Marengo, J.J. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los anestésicos modifican la liberación de calcio por el retículo sarcoplasmático (RS) de músculo esquelético. El anestésico general halotano es capaz de inducir liberación de calcio, en especial en individuos susceptibles de sufrir crisis de hipertermia maligna. Los anestésicos locales tetracaina y procaina inhiben la liberación de calcio, mientras que cocaína y lidocaína la potencian. Hemos fusionado vesículas de RS de *Caudiuverbera caudiuverbera* con bicapas planas de fosfolípidos, obteniendo registros de canales de alta conductancia (100 pS), activables por ATP y Ca en el compartimiento citosólico.

Halotano 13 µM provocó, en condiciones de pCa 6.0 en el compartimiento citosólico, un aumento del tiempo fraccional abierto (Po) de  $0.33 \pm 0.05$  ( $x \pm SEM$ ) a  $0.70 \pm 0.07$ , sin modificar la conductancia. Este cambio se debió a un aumento de las constantes de tiempo abierto y a una reducción de las constantes de tiempo cerrado. 26 µM halotano aumentó Po hasta  $0.97 \pm 0.01$ . Cambios similares se obtuvieron a pCa 6.5, pero con concentraciones mayores de halotano. A pCa 7.0, halotano 130 µM no tuvo efecto.

Tetracaina, en concentraciones de 0.1 a 2 mM, aumentó Po en canales que presentaban inicialmente  $Po < 0.1$  (pCa 6.5), favoreciendo además la aparición de niveles de menor conductancia. Similar efecto se produjo en canales con  $Po > 0.5$ . En este caso se observó además eventos cerrados de larga duración.

Nuestros resultados contribuyen a la comprensión del mecanismo de acción de anestésicos en condiciones normales y patológicas.

Financiado por FONDECYT 902 y 972, NIH GM35981 y DTI U. de Chile 2123.

**RASGOS ESTRUCTURALES DE β-LACTAMASAS** (Structural features of β-lactamases) M. Bunster, V. Vargas. Depto. Biología Molecular. Fac. Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

Este trabajo plantea un enfoque al estudio estructural de proteínas ejemplificado en la β-lactamasa clase A de *B. cereus*. Este enfoque considera la formulación de un modelo estructural para la β-lactamasa, basado en estudios de predicción de estructura secundaria, que considere dos dominios continuos, en el cual se señala la probable ubicación del sitio activo.

Este primer modelo sugiere los test experimentales necesarios para averiguar su validez. Si el modelo es correcto, entonces debe cumplirse que:

- la hidrólisis de la cadena polipeptídica en condiciones no denaturantes con BrCN debe generar ambos dominios completos debido a la ubicación de los residuos metionina.
- la hidrólisis controlada de la cadena polipeptídica con tripsina debiera evidenciar la aparición prioritaria de péptidos de tamaño semejante a los dominios considerados.

Los resultados indican que lo más probable es que esta enzima presente una estructura muy semejante a la de otras β-lactamasas Clase A.

Proyecto 20.31.12. Dirección de Investigación, Universidad de Concepción.

Proyecto 89/87. FONDECYT.

**MADURACION DEL ESPERMATOZOIDE DE GALEA MUSTELOIDES DURANTE EL TRANSITO EPIDIDIMARIO** (Sperm maturation of Galea musteloides during epididymal transit). Burgos, M.H., Gutiérrez, L.S. y Fornés, M.W. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

El espermatozoide de esta cavia salvaje durante el período reproductivo, llega a la primera porción del epidídimo en estado de inmadurez morfológica y funcional. La forma del acrosoma cambia de aplanado a fuertemente incurvado durante el tránsito. La reacción para polisacáridos (Methenamina-Plata) también revela una remodelación. La reacción para localizar colesterol (Digitonina) se hace aparentemente más intensa en la región acrosomal durante el tránsito y no se presenta en la región postacrosomal. A su vez esta región revela por criofractura en la fase P de la membrana plasmática un aumento en el número de partículas de 13-m. Este aumento que es significativo corresponde a las proteínas intramembranas.

Durante el tránsito epididimario los espermatozoides establecen estrecho contacto con las microvellosidades gigantes (esterocilias) de las células principales del epitelio. Resulta muy llamativa la formación de vesículas en el extremo de las esterocilias en el caput y la implantación de las cabezas de espermatozoides entre las esterocilias en la región caudal. Se postula que esta aparente interrelación tendría significado en el proceso de maduración.

Con apoyo del CONICET. Argentina.

**FUEGO EN EL MATORRAL: EFECTOS A CORTO PLAZO.** (Fire in the shrublands: short-term effects). Bustamante, R., Grez, A.A. y Simonetti, J.A. Depto. Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los efectos inmediatos y a corto plazo del fuego sobre la diversidad biológica del matorral esclerófilo centro-chileno han sido poco estudiados. En particular se carece de comparaciones de la diversidad y abundancia de organismos antes y después de un incendio.

Nosotros estudiamos la diversidad y abundancia de arbustos, artrópodos y micromaníferos en matorral con baja y alta cobertura arbustiva durante 18 meses antes e inmediatamente después (3 días a 6 meses) de un incendio.

La riqueza de especies, cobertura, plántulas y semillas de arbustos son reducidas por el fuego tanto en matorral ralo como denso. Los artrópodos de suelo son más abundantes después del fuego en matorral ralo, disminuyendo en matorral denso. La riqueza de especies y abundancia de micromaníferos es menor en ambos tipos de matorral después del fuego, pero este efecto se expresa sólo después de dos meses de ocurrido el incendio. En síntesis, el fuego empobrecería la biota del matorral, en términos de diversidad y abundancia. Estas reducciones se expresan a distintos tiempos después del incendio.

Financiamiento parcial: DTI 2586-8824 & Fondecyt 847-89

**CITOESQUELETO AXONAL: SINTESIS LOCAL O FLUJO LENTO?** (Axonal cytoskeleton: locally synthesized or slowly transported?) Bustos, J., Vial, J.D., Alvarez, J., U. Neurobiología Molecular, Fac. Ciencias Biológicas, Universidad Católica.

Existen 2 hipótesis explicativas del origen de las proteínas del citoesqueleto axonal: una asume que ellas provienen del soma por flujo lento y la otra asume que son sintetizadas localmente en el axón. Para discriminar, aplicamos localmente al nervio inhibidores de la síntesis de proteínas, ya que las predicciones que emergen de dicha hipótesis son diferentes.

Manguitos de sílica impregnados en drogas fueron colocados en nervio sural de rata. El efecto se evaluó a los 7 días con ME transmisión.

El manguito por sí solo no perturbó el tejido. Cicloheximida y emetina, inhibidores de la síntesis ribosomal de proteínas, disminuyeron notoriamente neurofilamentos y microtúbulos, éstos últimos fueron 30% del control; en la célula de Schwann, estas drogas provocaron un aumento del citoplasma y del compartimento membranoso. Estos efectos fueron reversibles. Actinomicina D, inhibidor de la transcripción, destruyó la célula de Schwann, sin alterar mayormente al axón. Esto sugiere que alteraciones de la célula de Schwann no afectan al axón. El tejido tenía aspecto normal proximal y distal al sitio de aplicación de drogas.

La hipótesis que asume la síntesis local del citoesqueleto axonal explica estos resultados sin supuestos adicionales, no así la que asume el transporte del citoesqueleto.

**VARIACION VERTICAL DIURNA DE *Microcystis aeruginosa* (Kuetz) ASOCIADO A LA LUZ QUE RECIBEN Y LA FIJACION DE CARBONO QUE REALIZAN (LAGUNA DE ACULEO 33°50'S, 70°54'W).** (Vertical diurnal distribution of *Microcystis aeruginosa* (Kuetz) associated with irradiance and primary productivity (Laguna de Aculeo 33°50'S, 70°54'W). Cabrera, S., Del Río, E. y Montecino, V. Depto. Biol. Cel. y Genética, Fac. Med. y Depto. Cs. Ecológicas, Fac. Ciencias, U. de Chile.

La fotosíntesis depende de la luz. En ecosistemas acuáticos se cuantifica por liberación de oxígeno o fijación de  $C^{14}$ . Con ambos métodos las microalgas deben ser mantenidas en botellas a profundidades discretas durante la incubación. En Laguna de Aculeo se había observado grandes biomásas superficiales de *M. aeruginosa* en la mañana y después del mediodía éstas se hundían. El viento favorece la mezcla o ellas se mantienen en profundidad para evitar las mayores irradiancias. Se midió: abundancia de pigmentos, cantidad y calidad de luz, temperatura y fijación de  $C^{14}$  en toda la columna de agua a las 11 y 14 hrs. en enero de 1988. Se observó que la clorofila integral de la columna de agua, no varía sino que se redistribuyen las microalgas. La transmisión de las diferentes longitudes de onda en el agua cambian durante el día, pero el rango del rojo se mantiene como el menor coeficiente de extinción, luego es el que penetrará más profundamente. Se pretende demostrar que estas microalgas evitarían las irradiancias del mediodía. Al interpretar el proceso de fotosíntesis debemos tener presente: quien lo realiza, cuales son las condiciones ambientales en que se produce y la posibilidad que las microalgas puedan ubicarse en las profundidades óptimas para recibir las irradiancias más adecuadas en las cuales la tasa de fotosíntesis sea elevada evitando con ello también, el proceso de fotorrespiración, propio de las mayores intensidades de irradiancias.

(Financiado por : D.T.I. N 2449-8835; FONDECYT 0854).

**Expresión de isoenzimas de fosfatasa alcalina durante el desarrollo inicial de ratón (Isoenzymes of alkaline phosphatase in early mouse development).** (Cachicas, V., Becker, M.L., PCB, P. Universidad Católica.

Durante el desarrollo inicial del ratón, la actividad de fosfatasa alcalina (FAL) ha sido usada como un marcador de diferenciación, porque su actividad se reconoce desde el estado de 4 células tardío y su localización revela una regionalización de la membrana plasmática. Sin embargo, no se sabe cual o cuales isoenzimas de FAL se expresan durante este periodo. Es posible que se trate de una o varias formas de FAL que podrían ser exclusivas de esta etapa inicial del desarrollo.

Para estudiar este problema hemos producido un panel de anticuerpos monoclonales (AMC) de rata, que reconocen antígenos de superficie comunes a células de terato-carcinoma de la línea F9 (TC-F9) y embriones iniciales de ratón. Mediante un ELISA modificado, se seleccionaron 10 AMC que retienen la actividad de FAL presente en un extracto de células TC-F9. La localización de los antígenos reconocidos por estos AMC, mediante inmunofluorescencia indirecta, mostró que: 3 AMC reconocen epítomos de FAL presentes desde el estado de oocito y 7 AMC reconocen epítomos de FAL cuya expresión surge durante la segmentación. La localización de uno de estos AMC es similar a la descrita con un ensayo citoquímico que revela la actividad de FAL en embriones. Estudios con extractos de tejidos diferenciados que expresan las isoenzimas de FAL y con L-fenil-alanina, sugieren que en este periodo del desarrollo se expresa el gen de FAL que codifica para la forma no específica de tejido. Estos resultados además de los estudios de actividad de FAL en oocitos y embriones, en presencia y ausencia de L-fenil-alanina, sugieren la presencia de al menos 2 isoenzimas de FAL en el desarrollo inicial, una de origen materno y otra producto de la embriogénesis.

Financiamiento parcial: FONDECYT 1171/88.

PROTEINAS DE MEMBRANA EXTERNA DE *Rhizobium meliloti* (Outer membrane proteins of *Rhizobium meliloti*). Calderón, I., Mery, V. y Urzúa, H.\* Unidad de Microbiología y Genética Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y \*Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Las bacterias del género *Rhizobium* son bacterias Gram -, por lo tanto, se caracterizan por presentar una membrana externa. Como otras bacterias de este tipo, poseen un bajo número de proteínas diferentes en ella. Se tiene antecedentes que estas bacterias al pasar del estado libre al estado de simbiosis con las raíces de las Leguminosas, sufren una serie de cambios tanto metabólicos como en su estructura, siendo una de ellas la membrana externa.

En este trabajo se ha comenzado la caracterización de Membrana Externa de *Rhizobium meliloti*. Esta bacteria ha sido crecida en el laboratorio en los medios de cultivo tradicionales y en esas condiciones presenta alrededor de 14 proteínas de membrana externa, 3 de las cuales estarían formando agregados, ya que no bandean en geles de poliacrilamida-SDS, sin haber sido calentados previamente a 100°C por 5 minutos.

Se ha purificado parcialmente una de estas proteínas usando una columna de filtración en fractogel TSK-HW 55F, la que da un peso molecular entre 30-40 kDa, con las que se realizarán ensayos de incorporación en liposomas para estudiar sus características de permeabilidad.

SOBREVIVENCIA DE LEISHMANIA MAJOR DESPUES DE SER INYECTADOS EN RATONES GENETICAMENTE RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES. (Survival of *Leishmania major* after injection in genetically resistant and susceptible mice). Calumbide, M.I., Muller, I. y Louis, J.A. OMS, Centro de Investigación y Formación en Inmunología. Instituto de Bioquímica, Universidad de Lausanne, Suiza.

Leishmaniasis es una enfermedad parasitaria de origen protozoario que representa un gran problema de salud pública en varias regiones del mundo. La infección del hombre con el parásito presenta un amplio espectro de enfermedades que dependen de la especie del parásito infectante y de la inmunidad del huésped. Este espectro puede ir desde la remisión espontánea hasta la visceralización y muerte del individuo. Casi todas las diferentes formas de leishmaniasis pueden ser reproducidas en modelos animales dependiendo del haplotipo genético. La inmunidad adquirida depende de la interacción de linfocitos T específicos y de macrófagos infectados.

Con el objeto de determinar el destino de los parásitos después de la inyección en el animal, se cuantificó mediante análisis de dilución limitante, el número de parásitos vivos presentes en el sitio de la infección. Los resultados indican que más del 96% de los parásitos son destruidos en los primeros minutos post inyección probablemente por mecanismos no inmunes, tanto en animales resistentes (CBA) como en animales susceptibles (BALB/C).



ESTUDIOS DE LA MUCOSA DE LA MOLLEJA EN EL POLLO, EN RELACION CON EL FENOMENO DE CITOPROTECCION (Studies of the chicken gizzard mucosa in relation to cytoprotection) Cambiaso, Verónica, Troncoso, Víctor, Masera, Lucy y Garrido, Jorge. Unidad de Estructura y Función Celular y Tissular, Depto. de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Con el propósito de estudiar los mecanismos celulares y moleculares que intervienen en el fenómeno de citoprotección gástrica y sus posibles relaciones con la patología llamada "erosión de la molleja", se realizó un estudio estructural y bioquímico de la mucosa del estómago triturador en pollos de diferentes edades, tanto normales como tratados con dietas inductoras de patología erosiva o ulcerosa. El estudio histoquímico mostró que en todos los casos, las glándulas tubulares presentes poseen al menos dos variedades celulares, productoras de diferentes tipos de secreción, sin observarse diferencias entre animales normales y animales portadores de úlceras; esto fue confirmado por el examen ultraestructural. El estudio electroforético de la secreción mostró la existencia de un componente proteico mayoritario, probablemente una glicoproteína, la que fue parcialmente purificada y caracterizada, encontrándose variaciones cuantitativas, aparentemente relacionadas con la presencia de lesiones. (Financiado por proyectos FONDECYT 346/88 y 526/89)

ASIMETRIA HEMISFERICA DE LOS COMPONENTES SENSORIALES DEL POTENCIAL EVOCADO AUDITIVO (PEA): DEXTRALIDAD Y SEXO.

Hemispheric asymmetry of sensory AEP components: handedness and sex. Camposano, S. y Lolas, F. Depto. de Fisiología y Biofísica, Fac. de Medicina, U. de Chile.

En zurdos y mujeres existe menor tendencia a la asimetría hemisférica anatómica y de funciones superiores. Los componentes sensoriales del PEA presentan asimetría modalidad dependiente en hombres diestros. Se examina la influencia de dextralidad y sexo.

Se estimuló a 56 Ss de 18 a 35 años, pareados por sexo y dextralidad mediante clicks binaurales de 63, 74, 87 y 97 dB (duración 1 ms) en tarea de atención pasiva. Derivaciones Cz, C3 y C4 referidos a ambas mastoides, tiempo de registro 400 ms, promedios de 100 estímulos. Mediante programa cursor se midió latencia y amplitud "peak to peak" de PIN1, N1P2 y P2N2. Se calculó pendientes intensidad/amplitud y coeficientes de asimetría. Mediante ANOVA se determinó la influencia de intensidad, manualidad y sexo.

La amplitud en Cz es influida por los tres factores examinados, para PIN1 la influencia principal es la intensidad. La amplitud es mayor en el hemisferio derecho de los diestros. La asimetría se relaciona con manualidad, no hay influencia del sexo. No hay asimetría de latencia.

Financiado parcialmente por Proyecto FONDECYT 48-88.

**RESPUESTA MOLECULAR DEL *Thiobacillus ferrooxidans* A LA HAMBRIANA DE FOSFATO Y AL AUMENTO DEL pH EXTERNO.** (Molecular response of *Thiobacillus ferrooxidans* to phosphate starvation and increasing of the external pH). Campos, G.<sup>1</sup>, Amaro, A.M., Seeger, M., Arredondo, R. y Jerez, C.A. Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Antofagasta y Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Para estudiar los mecanismos moleculares de respuesta y adaptación de las bacterias lixiviantes de minerales a su entorno, analizamos el comportamiento de *Thiobacillus ferrooxidans*, bacteria quimiolitotrófica acidófila, frente a la falta de un nutriente esencial como fosfato, y a los cambios de pH externo.

Las bacterias se crecieron sin o con fosfato (0.22 mM). Para estudiar el efecto del pH, las células se transfirieron desde pH 1.5 a 3.5 en ausencia o presencia de  $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3$ .

Las células crecidas en ausencia de fosfato mostraron varios cambios, entre ellos, una clara inducción de varias proteínas con pesos moleculares de 80, 72, 70, 36 y 24 kDa. Algunas de estas proteínas están asociadas a la fracción de membrana total de la célula, especialmente la proteína de 36 kDa. Por otro lado, el cambio de pH de 1,5 a 3,5 indujo la síntesis de una proteína mayoritaria de 36 kDa, la que podría corresponder a la proteína del mismo peso inducida por la falta de fosfato. Actualmente estudiamos si algunas de estas proteínas son inducidas también por el shock térmico que hemos descrito anteriormente y si corresponden a las proteínas de membrana externa conocidas como porinas, que regulan la difusión de iones en la bacteria.

Financiado por Proyectos FONDECYT 88-0074, PNUD/UNESCO CHI/ 88-003 y Universidad de Chile.

**"MODIFICACIONES QUIMICAS DE ARGININA EN  $\beta$ -LACTAMASA DE SHIGELLA FLEXNERI"** (Chemical modifications of arginine on  $\beta$ -lactamase from *Shigella flexneri*). Campos, M., Alarcón, M., González, H. y Sánchez, R. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Concepción.

Con el objeto de dilucidar el mecanismo de resistencia bacteriana a antibióticos de tanta relevancia como las penicilinas y cefalosporinas, es esencial tipificar el sitio activo de  $\beta$ -lactamasas. Nuestro estudio se ha centrado en el posible rol de arginina en la  $\beta$ -lactamasa de *Shigella flexneri* UCSF-129, cepa patógena, causante de graves estados diarreicos en la población infantil. Se trabajó con enzima purificada por cromatografía de afinidad en geles de agarosa-ácido fenilborónico. Se modificó químicamente la enzima con fenilgloxal, en una reacción molar de 1/830, inactivándose en los primeros 20 minutos de la reacción, en presencia de fosfato sódico 50mM pH 8,3. Por electroenfoque se constató su modificación, ya que se detectó una disminución en el pI, equivalente a la pérdida de una carga positiva. Esta fue protegida por cefradina, lo que indicaría que la modificación de arginina se llevó a cabo en su sitio activo. Se constató, por espectroscopía diferencial, que el proceso no conllevó cambios conformacionales. Resultados similares se obtuvieron con 2,3 butanodiona. Esto implicaría que un residuo de arginina sería crítico para la actividad de esta  $\beta$ -lactamasa, probablemente como estabilizador del sustrato que tiene la carga negativa de un grupo carboxilo en posición C-3 o C-4.

Financiado por el Proyecto N°20.1354 de la D.I. de la Universidad de Concepción.

**DINAMICA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN POBLACIONES HUMANAS COMO UN CASO DE PARASITISMO** (Infectious diseases dynamics in human populations like a parasitism's case). Canals, M. Depto. Cs. Ecológicas, Fac. Ciencias, Universidad de Chile.

Los microparásitos difieren de los macroparásitos en numerosas características. Sin embargo, desde el punto de vista de la dinámica de poblaciones existen algunas semejanzas. Entre estas se destacan las fluctuaciones en la incidencia de las enfermedades infecciosas al ser comparadas con las fluctuaciones poblacionales en algunos sistemas microparásito-hospedero.

En este trabajo se analiza desde un punto de vista empírico el comportamiento de un grupo de enfermedades infecciosas humanas en Santiago, como un ejemplo de interacción microparásito-hospedero.

Se encuentran fluctuaciones periódicas en la incidencia de Sarampión, Coqueluche y Escarlatina, encontrándose un buen ajuste con los períodos predichos de acuerdo a modelos teóricos. Finalmente, se realiza un análisis teórico que establece la equivalencia entre la macrodinámica poblacional de estos microparásitos y las fluctuaciones poblacionales que se encuentran en ciertos sistemas microparásito-hospedero. Se destaca esta semejanza pues ocurre en un sistema particular en el que el hombre es el hospedero y en el que existe una intervención a través de programas de vacunación.

**REGULACION DE LA DURACION DE  $G_1$  Y S POR EL TAMAÑO CELULAR EN CELULAS DE LA RAIZ DE ALLIUM CEPA.** (Cell size regulation of  $G_1$  and S length in *Allium cepa* root cells). Cánovas, J.L., Cuadrado, A., Escalera, M. y Navarrete, M.H. Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC. Velázquez, 144. 28006-Madrid. España.

En trabajos anteriores hemos mostrado las curvas de distribución del área de proyección de la superficie celular (parámetro que refleja el tamaño celular) en puntos críticos del ciclo mitótico de *A. cepa*: nacimiento, Ab; iniciación y terminación de S, Ai y At; división, Ad (Navarrete et al., J. Cell Biol. 38, 22, 1985; J. Cell Sci. 87, 635, 1987). En esta comunicación presentamos un análisis teórico de dichas curvas que ha dado lugar a los siguientes resultados. 1. La probabilidad de iniciar S correspondiente a células en el período  $G_1$ ,  $P(I/G_1)$ , aumenta en función del tamaño de las mismas. Esta probabilidad se ha calculado relacionando las curvas de distribución de Ab y Ai a fin de estimar la probabilidad de estar en  $G_1$  a un tamaño dado,  $P(G_1)$ , y la probabilidad de iniciar S en la población total,  $P(G_1 \cap I)$ , a igual tamaño. Con estos datos el valor de  $P(I/G_1) = P(G_1 \cap I) / P(G_1)$  se halla fácilmente. Se ha descartado que el incremento de  $P(I/G_1)$  se deba al aumento de la edad de las células. Se concluye que el tránsito  $G_1/S$  es probabilístico y que tiende a ocurrir más pronto cuanto mayor sea el tamaño de la célula al nacer.

2. El análisis de las curvas de distribución de Ai y At apoya fuertemente un modelo de regulación de la duración de S cuyas premisas son: a, grupos de células de igual tamaño al iniciar la replicación del DNA, Ai, tienen igual S; b, existe una correlación negativa entre Ai y la duración de S.

PAPEL DE LA ACROSINA EN LA FECUNDACION (Role of acrosin in fertilization). Capote, C., Pérez, C., De Ioannes, A. y Barros, C. Laboratorio de Embriología y Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Uni versidad Católica de Chile.

Espermatozoides de hamster preincubados por largo perío dos de tiempo pierden la capacidad de penetración de la zona pelúcida y el efecto lítico sobre ésta. Se ha suge rido que la acrosina podría ayudar a los espermatozoides en su paso a través de la zona pelúcida y que una pérdi da gradual de ésta, desde el acrosoma, explicaría la disminución de la penetración a la zona pelúcida. Mediante el uso de anticuerpos monoclonales antiacrosina, aplicación con plata y observaciones con microscopía de contraste de fase hemos encontrado un patrón de marcación asociado a la región acrosomal de los esperma tozoides recién reaccionados. Espermatozoides en estados más avanzados de la reacción presentan un patrón de mar cación asociado tanto al fantasma acrosomal como a la región acrosomal del espermatozoide, ésta última sin em bargo con una intensidad de marcación menor que la pre sentada por espermatozoides recién reaccionados. En aque llos espermatozoides que han sufrido completamente la reacción acrosómica, la marcación es aún más débil y en algunos casos está asociada a la región del segmento ecuatorial. A medida que aumenta el período de capacita ción se observa un incremento de los espermatozoides re accionados y con menor marcación de plata en el acrosoma. Hemos encontrado resultados similares en espermato zoides humanos. Estos resultados estarían demostrando que la pérdida de la capacidad de penetración de la zona pelúcida por espermatozoides preincubados por largos períodos de tiempo es concomitante con una pérdida de la acrosina desde el acrosoma de espermatozoides de hamster lo que explicaría la disminución de la capacidad de pen etración de la zona pelúcida de parte de estos esperma tozoides.

Financiado por Grants 495/89, 577/89 y GA-PS 87/10 de La Fundación Rockefeller.

MORFOLOGÍA DE LA GLANDULA ANTENAL DE SIRI CALLINECTES DANAE (Morphology of antennal gland of crab *Callinectes danae*). Carmo, F.M.S., Penna, A.M., Redins, C.A., Oliveira, E.B., Rocha, G.B., Costa, M.A.B. Departamento de Biología. Univer sidade Federal do Espírito Santo.

In *C. danae* there is one pair of antennal glands (excretory organ) in the antero-inferior part of stomach. Apparently, these glands work as osmotic regulatory organ. We have been studying the morphology of this glands in normal salinity (17‰ S). The antennal glands were removed from male animals, fixed in Bouin's fluid and the slices were stained by HE thecnic. The antennal gland shows an oval shape with a small recess in one of its faces. In this gland two structures were evidenci ated: the coelomosac and the labyrinth. The coelomasac is in contact with the recess and send projections to the interior of the organ and is involved by the labyrinth. The coelomo sac shows a simple cubic epithelium, with highly vacuolated cells (high =  $12,56 \pm 2,96$   $\mu$ m; nucleus =  $4,44 \pm 0,56$   $\mu$ m; vacuoles =  $3,88 \pm 2,44$   $\mu$ m). In the labyrinth, the cubic epithelium is high, showing cells with brush border and basal striations, with vacuolized cells (high =  $11,87 \pm 1,94$   $\mu$ m; nucleus =  $5,06 \pm 1,03$   $\mu$ m; vacuoles =  $9,18 \pm 3,10$   $\mu$ m). These observations suggest that the hemolymph filtration process occurs in the coelomosac and the filtrate is modified in the labyrinth.

VARIACIONES ESTACIONALES EN EL TESTICULO Y EPIDIDIMO DE VIZCACHA (*Lagostomus maximus maximus*). (Seasonal variations in the testis and epididymis of vicuña-L. m.). Caravaca, N., Scardapane, L.A., Fuentes, L., Guzmán, J.A. y Piezzi, R.S. Instituto de Histología y Embriología y Cátedra de Histología, Universidades de Cuyo y San Luis, Argentina.

En el presente trabajo se investigan los cambios mor fométricos anuales del testículo y epidídimo de la viz cacha adulta en su habitat. Los animales fueron decapitados durante la noche, cerca de sus cuevas (1986-1988). Los pesos corporales fueron pesados y los testículos y epidídimos procesados para microscopía de luz. Se rea lizaron los siguientes estudios: a) Histológicos (cortes de parafina y secciones finas); b) Morfométricos (secciones transversales de conductos, programa computarizado, Peachey, 1982) y c) Índice espermático (Johnston y Zucher, 1980).

Los resultados demuestran importantes cambios estruc turales asociados al ciclo estacional. Estos cambios están caracterizados por: 1) Un período de transformación gradual (otoño e invierno) de los túbulos seminíferos en cordones, inhibición de la espermatogénesis y reducción del diámetro del ductus epididimario. Esta regresión es más pronunciada en agosto. 2) Un período de recuperación (primavera) con incremento del peso ganadal y mayor desarrollo de los epitelios testicular y epididimario y 3) Un tercer período (verano) con significativa activi dad gonadal y completa espermatogénesis. Se comparan estos resultados con los niveles de testosterona plasmática y HICMT (hidroxindol-o-metil transferasa) pineal. Este ciclo gonadal discontinuo podría estar asociado a diferentes factores ambientales, fundamentalmente a la información del fotoperíodo ambiental mediado por la pineal.

EFFECTOS TOXICOS DEL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> EN SISTEMAS BIOLÓGICOS.

(Toxic effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in biological systems). Carrasco, G., Quevedo, I., Quevedo, L. Dpto. Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y de Rec. Nat., Universidad de Concepción.

El amplio uso del peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en la medicina, así como en neurocirugía es motivación de diversos estudios, y es así como ha sido descrita su toxicidad en varios tipos celulares. El presente trabajo estudia el efecto de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en nervio ciático de *Caudiverbera caudiverbera*, músculo estriado y piel ventral de *Pleurodema ventral*, y cerebro de perro.

Este estudio incluye una observación morfológica, mediante cortes histológicos. Medición de parámetros bio eléctricos; potencial de acción en nervio, potencial de membrana en músculo, y corriente de cortocircuito y diferencia de potencial en piel. Además se midió la posi ble peroxidación lipídica, por la técnica del ácido tío barbitúrico.

Los resultados muestran una disminución dosis dependiente en los parámetros bioeléctricos. Así también a nivel morfológico se observa alteraciones histológicas. La producción de peroxidación lipídica es dosis dependiente en los tejidos en estudio. Se observa también el efecto protector de la catalasa sobre los parámetros bioeléctricos e histológicos.

Las soluciones utilizadas no muestran cambios signifi cativos en las mediciones de osmolaridad y tensión superficial.

Los resultados nos permiten postular el efecto tóxico del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en los sistemas biológicos en estudio y la presencia de un mecanismo de peroxidación lipídica en esta injuria.

Proyecto D.I. 20.33.43, Universidad de Concepción

**METABOLISMO DE INOSITOLES FOSFATO EN CELULAS DE MUSCULO ESQUELETICO HUMANO EN CULTIVO CONTINUO.** (Metabolism of inositol phosphates in human skeletal muscle cells in continuous culture). Carrasco, M.A., Tascón, S. y Jaimovich, E. Departamento de Fisiología y Biofísica, Fac. de Medicina, Universidad de Chile.

Se desarrolló una línea celular a partir de una biopsia quirúrgica de músculo humano adulto normal, por incubación con medio condicionado de células tiroideas. Esta línea presenta marcadores funcionales e inmunocitoquímicos de músculo esquelético y dio origen a numerosos clones algunos de los cuales presentan fusión celular espontánea. En un medio con bajo suero y en presencia de insulina y transferrina, las células cesan su división y se observa fusión celular que da origen a estructuras de tipo miotubulares con varios núcleos.

La incubación de las células con  $^3\text{H}$ -inositol, se traduce en la incorporación de la marca a fosfatidil inositol (92%), fosfatidilinositol monofosfato (PIP, 5-6%) y fosfatidil inositol bifosfato (PIP<sub>2</sub>, 2-3%). En células incubadas por 20 min con  $\text{KCl}$  95mM el PIP aumenta de 1,9 a 3,5 pmoles/mg prot. y el PIP<sub>2</sub> de 0,7 a 1,4 pmoles/mg prot. Aumentos similares se producen al incubarse las células con acetilcolina 50  $\mu\text{M}$ . En la fase acuosa se detectó la producción de inositol mono, bi y trifosfato.

Podemos concluir que estas células son un modelo apropiado para el estudio de los segundos mensajeros involucrados en el acoplamiento excitación-contracción en músculo esquelético humano.

Financiado por FONDECYT 896, NIH GM 35981 Y DTI Univ de Chile 2123.

**ESTUDIO MORFOLOGICO DE CEPAS DE *Erankia* nativas** (Morphological study of native *Erankia* strains). Carra, H.; Carrasco, A.; Gilmann, L.; Marzán, H. Depto. Cs. Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Las bacterias del género *Erankia* pertenecen al orden de los actinomicetales y se caracterizan por su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico en simbiosis con plantas. Las plantas susceptibles a la infección y nodulación por *Erankia* se encuentran en 23 géneros que corresponden a 8 familias de Angiospermas de amplia distribución. En Chile se encuentran 5 géneros que pertenecen a la familia Rhamnaceae, en los que se han descrito la presencia de nódulos. Entre éstos tenemos: *Trava trinervia*, *Taluma quinquenervia*, *Colletia spinosissima*, *Ratanilla nitida*, *Ratanilla opheda* y *Discaria trinervia*.

En el presente trabajo se muestran las características morfológicas de 3 aislados del género *Erankia* obtenidos de nódulos de Rhamnaceae nativas.

La metodología utilizada para el aislamiento y caracterización morfológica consistió en a) esterilización superficial de nódulos frescos, b) incubación en medio convencional para verificar esterilidad, c) homogenización y sedimentación en sacarosa al 60% (5000 xg 1 h) y d) dispersión en placas de medio BAP-pectina (0,05%). La morfología nodular y bacteriana fue estudiada mediante microscopía óptica y microscopía electrónica (TEM y SEM).

Las cepas de *Erankia* aisladas a partir de nódulos de Rhamnaceae exhiben las características morfológicas aceptadas para el género, es decir, hifa procarriótica ramificada y septada, esporangios poliédricos y vasículas.

El conocimiento y caracterización de aislados de *Erankia* permitirá la selección de cepas de mayor infectividad y de alta eficiencia en fijación de nitrógeno. Estas cepas podrían utilizarse en programas de inoculación inducida, lo que aseguraría el aporte de nitrógeno en ecosistemas forestales y ayudaría al control de la erosión y desnitrificación.

Financiado por Proyecto FONDECYT 0874/1989

**DISTRIBUCION SUBCELULAR DE FENILANINA AMONIO LIASA EN PLANTULAS DE *Citrus limonum*** (Subcellular distribution of PAL in *Citrus limonum* seedlings). Carvajal, E. Dep. Bioq. Biol. Mol., Fac. Cs. Quím. y Farm. Universidad de Chile.

La fenilalanina amonio liasa (PAL) cataliza la primera reacción de la vía fenilpropanoide, a través de la cual se sintetizan metabolitos secundarios de defensa, en respuesta a la agresión por patógenos.

Se estudió la distribución subcelular de la PAL, midiendo la actividad de la enzima, en fracciones obtenidas por centrifugación diferencial. El material de partida correspondió a homogeneizados preparados de plántulas de limonero sanas, e infectadas con *Trichoderma harzianum*.

Las fracciones se identificaron midiendo las actividades de Citocromo c oxidasa (mitocondria), NADPH citocromo c reductasa (microsomas), ATPasa-K<sup>+</sup> (membrana plasmática) y glucosa-6-P deshidrogenasa (fracción soluble). Cada fracción se caracterizó además por PAGE-SDS y mediante "western blot".

Los resultados del fraccionamiento permitieron determinar el compartimento en que se encontraba la PAL, tanto en plántulas sanas como infectadas. La caracterización de las fracciones permitió estimar la masa molecular de la enzima y establecer que la proteína nativa es un tetrámero de subunidades iguales.

Trabajo financiado por FONDECYT 157/88, IFS (C/ 1139-1) y DTI-U.Chile (B 2950-8813). Dirigido por L. M. Pérez.

**CICLO DE VIDA DE UNA CEPA CHILENA DE *Dunaliella salina*** (DUNAL) THEODORSCO. (Life history of a Chilean strain of *Dunaliella salina* (Dunal) Theodorisco). Carvajal, M.A. Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción. (Patrocinio: P.E. Domínguez).

*Dunaliella salina* (Dunal) Tód. (Chlorophyceae) es una microalga que, bajo condiciones ambientales particulares, elabora un alto porcentaje de  $\beta$ -caroteno, el que sobrepasa en ventajas al artificial. Sin embargo no existen antecedentes acerca del ciclo de vida de esta alga, lo cual entregaría mayor información para el manejo industrial de este recurso (obtención de cepas más productivas, ampliación de las áreas mundiales de producción, etc.).

El presente trabajo tiene como objetivo inducir los diferentes estadios del ciclo de vida de una cepa chilena de esta especie, bajo condiciones de laboratorio.

El diseño experimental consiste en inducir los estadios utilizando un gradiente cruzado entre concentraciones de nitrato y cloruro de sodio, variando temperatura, fotoperíodo e intensidad de luz.

Se obtuvieron cistos y se observó cigotos tetraflagelados, faltando por detectar cigosporas y estado palmeloide.

Investigación financiada por Proyecto FNUD-CHI/87/009 y Proyecto Fondecyt/89/0823.

INTERNALIZACIÓN DE SITIOS ANIÓNICOS DE SUPERFICIE Y FUSIÓN LISOSOMA-FAGOSOMA DURANTE LA INTERACCIÓN DE *Toxoplasma gondii* CON MACROFAGOS (Interiorization of surface sites and phagosome-lysosome fusion during interaction of *Toxoplasma gondii* with macrophages). Carvalho, L. and De Souza, W. - Laboratório de Microscopia Eletrônica, UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil.

The participation of cell surface anionic sites on the interaction between *T. gondii* and macrophages and the process of phagosome-lysosome fusion were analysed using cationized ferritin as a marker of cell surface anionic sites and albumin-colloidal gold as a marker for secondary lysosomes. Anionic sites of the macrophage's surface labelled with cationized ferritin before the interaction, are internalized together with untreated parasites. However, after interaction with fixed or specific antibody-coated parasites, the cationized ferritin particles are observed in endocytic vacuoles which do not contain parasites. Macrophages previously labelled with albumin-gold at 37°C, were incubated in the presence of cationized ferritin at 40°C and then incubated with untreated or specific antibody-coated parasites. After interaction with opsonized parasites, the colloidal gold particles were observed in the parasitophorous vacuoles while the cationized ferritin particles were observed in cytoplasmic vesicles. However, when the interaction was carried out with untreated parasites, the parasitophorous vacuoles exhibited ferritin particles while the colloidal gold particles were observed in cytoplasmic vesicles.

Supported by: CNPq and FINEP

LOCALIZACIÓN INMUNOCITOQUÍMICA DEL PEPTIDO NATRIURÉTICO ATRIAL EN CORAZÓN ADULTO DE *Bufo arenarum* (ANURA, BUFONIDAE). (Immunocytochemical localization of Atrial Natriuretic Peptide in the heart of *B. arenarum* (Anura, Bufonidae).

Casco V.H., Maldonado C. & Aoki A. Centro de Microscopia Electrónica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, República Argentina.

El corazón de la mayoría de los Vertebrados contiene una familia de péptidos con actividad hormonal, denominados Péptidos Natriuréticos Atriales. Estos se localizan en gránulos secretorios específicos alojados en el sarcoplasma de células mioendocrinas del atrio derecho, y en menor medida en el izquierdo. El objetivo de este trabajo ha sido dilucidar la distribución de estos péptidos mediante técnicas de inmunocitoquímica en el corazón adulto del *B. arenarum*, el cual exhibe una actividad secretoria estacional constituyendo, por este motivo, un excelente modelo experimental para el estudio de la síntesis y secreción de las hormonas cardíacas.

La localización de inmunoreactividad fue realizada tanto a nivel de microscopía fotónica como electrónica utilizando anticuerpos contra  $\alpha$ -ANP humana y  $\alpha$ -ANP de rata. En el primer caso se utilizó la técnica de avidina-biotina sobre cortes de criostato y en el segundo caso proteína A-oro coloidal sobre cortes ultrafinos de LR-White. A nivel óptico se observó un gran número de cardiocitos inmunoreactivos para ANP tanto en aurículas como en ventrículo. Sin embargo en este último la inmunorreacción fue más débil demostrando que el contenido de estos péptidos es menor en los cardiocitos ventriculares. Esta distribución marca una diferencia con la hallada en los ventrículos de mamífero en los que la localización del péptido se restringe al sistema de conducción. Los estudios de microscopía electrónica mostraron los típicos gránulos tanto en cardiocitos auriculares como ventriculares conteniendo inmunoreacción específica para ANP. Estos estudios indicarían que la distribución de los cardiocitos con función endócrina en Vertebrados inferiores no ha alcanzado la especialización que se observa en mamíferos. Sin embargo se podría concluir que inmunológicamente se trata de péptidos cuya secuencia de aminoácidos se habría conservado sin grandes modificaciones en la filogenia de los Vertebrados.

AGREGACION FAMILIAR DE FISURA LABIOPALATINA, ANIRIDIA PARCIAL Y NEUROBLASTOMA. (Familial aggregation of cleft lip and palate, partial aniridia and neuroblastoma). Castillo S., Tobella L., Astete C., Salazar S. Servicio de Genética, Hospital Clínico U. de Chile, Fundación Gantz.

Una pareja joven, no consanguínea, es enviada a evaluación genética con su hija de 6 meses, portadora de una fisura labiopalatina derecha completa e izquierda 2/3, además de aniridia parcial y cataratas bilateral. Tienen una hija de 4 años en tratamiento por un neuroblastoma y presentaron un aborto espontáneo de 2 meses. Existe el antecedente de un sobrino materno afectado con fisura labiopalatina bilateral.

Hay diversas causas de aniridia. Se ha encontrado ligamiento con ACP1 (McK 17150) en el cromosoma 2, otra forma se encuentra ligada a ACP2 (McK 17165) en 11p. Existe una variante más severa con retardo mental. Hay una forma asociada con tumor de Wilms, anomalías genitales y delección de 11p12. También se ha descrito un cuadro con aniridia parcial, agenesia renal unilateral y retardo psicomotor de herencia autosómica recesiva.

El neuroblastoma ha sido mapeado tentativamente en 1p34. Se ha visto una variante cromosómica, inversión paracéntrica del cromosoma 11 con puntos de fractura en 11q21 y 11q23, segregando en familias con neuroblastoma. El oncogen NMYC del neuroblastoma ha sido ubicado en 2p23 o 2p24.

Estos argumentos señalan una indicación de realizar estudio citogenético en los miembros de esta familia para descartar una translocación con puntos de fractura que involucren los genes comprometidos y de implementar la técnica de cromosomas prometáfásicos para buscar delecciones puntuales. Constituirá un aporte para el consejo genético de esta familia y para la información sobre la ubicación de estos genes.

Financiado parcialmente Proyecto Fondecyt 89/0801.

ESTUDIO DE LAS ENZIMAS CELULOLÍTICAS Y XILANOLÍTICAS DE *P. purpurogenus*. (Study of the cellulolytic and xylanolytic enzymes from *P. purpurogenus*).

Castro, F., Scarpa, J., Moya, A., Steiner, J. y Eyzaguirre, J. Laboratorio de Bioquímica, P.U. Católica de Chile y Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile.

La degradación enzimática de celulosa a glucosa es catalizada por la acción conjunta de las enzimas endoglucanasa, exoglucanasa y  $\beta$ -glucosidasa. Las xilanasas comprenden otro conjunto de enzimas que degradan el xilano a xilosa. Ambos grupos de enzimas son potencialmente muy importantes; de lograrse una fácil hidrólisis de la celulosa y de la hemicelulosa, los residuos agrícolas que las contienen, serían una importante fuente de alimentos, combustibles y material fermentable.

Se han realizado estudios de las enzimas mencionadas usando como modelo el hongo *Penicillium purpurogenus*, que las libera al medio de cultivo. Se creció el hongo en el medio líquido de Mandels a 28° en un incubador con agitación orbital, y con distintas fuentes de carbono.

Se estudió la cinética de producción de las actividades endoglucanásica y degradativa de papel filtro (FFA), comparando diversas fuentes de carbono. Con celulosa y paja de trigo se obtuvo la mayor actividad: 0,22 U/ml de medio para FFA y 8,5 U/ml para endoglucanasa. Las más altas actividades específicas se lograron con celulosa. Buen rendimiento de xilanasas (7 U/ml) se obtuvo con paja de trigo al 1% como fuente de carbono; en cambio si dicha fuente es celulosa, los valores son sólo 0,5 U/ml. La enzima  $\beta$ -glucosidasa se produjo con más alto rendimiento en cultivos con "corn steep liquor" como fuente de nitrógeno, y salvado y paja de trigo como fuentes de carbonos 2,55 U/ml. La enzima se ha purificado a un 90% según geles de poliacrilamida-SDS.

*Penicillium purpurogenus* es un muy buen productor de enzimas celulo- y xilanolíticas, y crece eficientemente en paja, por lo que parece un buen modelo de estudio para los objetivos biotecnológicos enunciados.

Proyecto FONDECYT 89-0580.

**DESARROLLO POSTNATAL DE LA BARRERA HEMATO-TESTICULAR EN LA RATA. COMPARACION ENTRE LOS TRAZADORES INTERCELULARES NITRATO DE NIQUEL E HIDROXIDO DE LANTANO.** (Postnatal development of the blood-testis barrier in the rat. Comparison between the intercellular tracer nickel nitrate and lanthanum hydroxide). Cavicchia, J.C., Gutierrez, L.S. Instituto de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Médicas. UNC. Mendoza. Argentina.

Testículos de ratas normales sacrificadas desde el nacimiento hasta los 30 días postnatal fueron inyectados intersticialmente con hidróxido de lantano al 2% o con nitrato de níquel al 1% en 5% de glutaraldehído-cacodilato. Otros animales de las mismas edades fueron procesados según las técnicas convencionales de criofractura. Las uniones estrechas inter-Sertolianas, escasas e interrumpidas en el nacimiento, aumentan progresivamente, poblando con gran densidad y con trayectos tortuosos las membranas sertolianas a los 13 días. En este período los trazadores penetran libremente entre todas las células. El níquel, por la intensidad y homogeneidad de la marcación es muy apropiado para verificar estos fenómenos. La aparición progresiva del espermatocito cigoténico coincide con la reorientación, predominantemente de orientación paralela a la membrana basal de las uniones y con la interrupción de la marcación con ambos trazadores. En conclusión, el uso combinado de níquel y lantano demuestra el sincronismo entre la aparición del espermatocito cigoténico y el establecimiento de la barrera. El nitrato de níquel es claramente superior, por la constancia e intensidad de la marcación, en mostrar los cambios de permeabilidad de la barrera hemato-testicular durante el desarrollo.

**BLOQUEO POR LANTANIDOS DE UN CANAL DE POTASIO ACTIVADO POR CALCIO DE ALTA CONDUCTANCIA.** (Blocking by Lanthanides of a high conductance calcium-activated potassium channel). Cecchi, X., Villarroel, A., Alvarez, O., Eisenman, G. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Department of Physiology, School of Medicine, University of California, Los Angeles, USA.

El mecanismo de conducción de iones a través del canal de potasio activado por calcio ha sido descrito con un modelo de cuatro sitios de ligamen y cinco barreras. La caracterización de los sitios de ligamen se puede hacer tanto estudiando la conducción de aquellos iones que pasan por el canal, como el bloqueo inducido por aquellos otros que llegan sólo hasta cierto punto dentro del canal.

Los iones lantánidos han sido usados para caracterizar proteínas que ligan calcio. En este caso, los hemos utilizado como "sondas" de los sitios de un canal de potasio porque el calcio es un bloqueador de este canal.

Hemos probado 4 de estos iones: Lu, Tb, Eu y La, agregados al lado intracelular del canal. Todos ellos bloquean la corriente de potasio, de una manera compatible con un modelo simple: los iones se ligan a un solo sitio del canal, que está dentro de la zona donde cae el potencial. La distancia eléctrica del sitio, calculada de la dependencia del potencial del bloqueo producido por todos ellos, es del orden de 0,1. La constante de disociación canal-lantánido está en el rango 5-50  $\mu\text{M}$  y es diferente para todos, pero no tiene una dependencia monotónica con el radio iónico. Este indica que el sitio tiene una intensidad de campo eléctrica intermedia. FONDECYT 1112-1989 y DTI (U. de Chile) B-2085-8812.

**ALTERACIONES CROMOSOMICAS EN CULTIVOS HUMANOS TRANSFORMADOS CON FACTORES ENDOGENOS.**

(Chromosome changes in human cultures transformed by endogenous factors). Caviedes, R., Be, C., Sciaraffia, C., Youlton, R., Koppmann, A.

Salas, K. Lab. Cultivo de Tejidos, Depto. de Fisiología y Biofísica, Fac. de Medicina, Universidad de Chile.

Células tiroideas humanas o de rata en propagación continua in vitro liberan al medio de cultivo uno o varios factores (aún no caracterizados) los cuales immortalizan células humanas normales y tumorales que han sido tratadas con tales medios condicionados por semanas o meses.

Las líneas celulares generadas mediante este evento transformante retienen propiedades histoespecíficas diferenciadas y poseen inhibición por densidad de crecimiento, a pesar de presentar concomitantemente con la immortalización, alteraciones cariotípicas marcadas.

El patrón cromosómico se modifica en cuanto a número y estructura con tendencia a la producción de cromosomas telocéntricos. Se discuten estos hallazgos en relación a las alteraciones cariotípicas poco evidentes que muestran las células neoplásticas y las líneas continuas en especie humana.

**IMUNOLocalización DE LA LAMININA CON ORO-COLOIDAL DESPUÉS DE LA INCLUSIÓN EN LOWICRYL E LRWHITE.** (Post-embedding colloidal gold immunolocalization of laminin with Lowicryl and LRWhite). Cesar, B., Buchi, D.F., Assef, M.L.M., Franco, C.R. and Gremski, W. Dept. of Cell Biology and Electron Microscopy Center of UFPR-Brasil.

Laminin is a high molecular weight glycoprotein of basement membranes and we now study its labeling in rat kidneys with colloidal gold and embedding in LR White and Lowicryl.

The kidney was cut into small pieces, fixed in 1% glutaraldehyde and 2% paraformaldehyde, and postfixed in 0.1% glutaraldehyde and 2% paraformaldehyde. Samples embedded in LR White were dehydrated in acetone and polymerized at 37°C while those in Lowicryl, were treated with methanol and polymerized at -20°C using UV irradiation. Nickel grids were successively floated on drops of PBS + defatted milk powder + Tween 20, rabbit anti-laminin IgG and colloidal gold anti-rabbit IgG.

Quantitative and qualitative labeling densities, using Lowicryl and LR White were somewhat similar. However, on comparing the results, the latter resin seemed better since it was more easy to work with.

Rabbit anti-laminin IgG was a gift from D. Wal and S. J. Souza - UFPR.

This work was partially carried out at the CME - IBCCF UFPR.

VARIABILIDAD TEMPORO-ESPACIAL DE ARREGLOS COMUNITARIOS DE MICROARTROPODOS EDIFICOS EN UN ECOSISTEMA DE SERTICO (Spatial and temporal variability of soil microarthropod assemblages in a desert ecosystem). Cepeda-Pizarro, J.G. & Whitford, W.G. Departamento de B. y Q., ULS & Department of Biology, NMSU, USA.

Se estudió por 17 meses la variabilidad espacial y temporal de los arreglos de microartrópodos edáficos en una cuenca hidrológica del norte del Desierto de Chihuahua (Nuevo México, USA). El análisis multivariado (Cluster Análisis y Componentes Principales) permitió identificar 3-4 categorías de arreglos los que fueron principalmente determinados por la estabilidad de la superficie del suelo. Aquellos suelos sometidos a escorrentía, inundación o estuvieron más expuestos a los extremos ambientales de radiación, mostraron las mayores variaciones temporales en la composición de especies y sus relaciones numéricas. El contenido hídrico y la cantidad de materia orgánica del suelo surgieron como factores importantes en la estructura del arreglo sólo en ausencia de los factores arriba mencionados. En sectores desprotegidos y suelos poco desarrollados, las lluvias intensas constituyeron un factor desestabilizador de la comunidad.

Financiamiento: Dirección de Investigación - ULS, y US-NSF: the Jornada-LTER Program BSR 8114466 y BSR 821539 a W. G. Whitford.

USO DE OCTADECIL SILICA COMO NUEVA FASE SOLIDA PARA INMUNOPURIFICAR PROTEINAS (Use of octadecyl silica as a new solid phase for protein immunopurification). Chiara, H. Depto. Bioq. Biol. Mol., Fac. Cs. Oc. y Fara. y Depto. Biol. Cel. y Gen. Fac. Med. Univer. de Chile.

La inmunopurificación consiste en la captura de antígenos específicos, de una mezcla compleja, con anticuerpos (Ac) acoplados covalentemente a una matriz. Sin embargo, debido a que la técnica para lograr la unión covalente es lenta y consume muchos reactivos, esta técnica no ha podido ser aplicada a problemas analíticos que requieran usos repetitivos de microinmunopurificaciones. Aquí se propone el uso de sílica octadecil (SiC18), una resina para HPLC, como fase sólida para inmunopurificar proteínas.

Los anticuerpos u otras proteínas se unen casi irreversiblemente a SiC18 por simple incubación de la resina con la proteína. Este tipo de interacción hidrofóbica Ac-SiC18 puede así ser considerada casi como un verdadero enlace covalente. Después de saturar los sitios libres de unión remanentes con BSA, la SiC18 es incubada con la mezcla de proteínas, y ensamblada en una columna. Posteriormente, se elieinan las proteínas unidas no específicamente y el antígeno se eluye rompiendo la interacción antígeno-Ac por cambio de pH. Esta técnica permite obtener: proteínas con una alta pureza en una única etapa de purificación, recuperar antígenos presentes en cantidades trazas (del orden del pg) de complejas mezclas proteicas (ej. suero humano) y además, purificar anticuerpos específicos acoplado el antígeno a SiC18. El fácil manejo de la SiC18 por centrifugación permite aplicarla a niveles de microescala.

Financiado por FONDECYT N20191-88, DTI, Univer. de Chile N202901-8813 y UNDP/WORLD BANK/MHO 880198, dirigidos por Dr. A. Ferreira. Además colabora S. Lavandero, que es becario de la Fundación Andes.

ALTERACIONES DE LA SEGREGACION DE LOS SISTEMAS ABO Y RH EN RECIEN NACIDOS MALFORMADOS (segregation distortions for the ABO and Rh system in malformed newborns) Cifuentes, L., Nazer, J., Valenzuela, C., Ruiz, G., Parada, L. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, U. de Chile. Unidad de Neonatología, Maternidad del Hospital Clínico de la U. de Chile.

Las malformaciones congénitas son importantes en la morbilidad neonatal. La pérdida reproductiva asociada a ellas resulta difícil de evaluar. Este trabajo analiza la segregación de los grupos sanguíneos ABO y Rh en recién nacidos malformados y en un grupo control, evalúa la participación de factores genéticos en la etiología de las malformaciones congénitas y estima la magnitud de la pérdida reproductiva temprana que se produce en relación a ellas. Se estudiaron 1074 recién nacidos malformados y sus madres y un grupo control de 993 recién nacidos no malformados, atendidos en la Maternidad del Hospital Clínico de la U. de Chile entre 1982 y 1987. Los recién nacidos y sus madres se tipificaron para ABO y Rh en el Banco de sangre de dicho Hospital. Los valores esperados de las distintas parejas madre-hijo para cada sistema sanguíneo se calcularon de acuerdo al método de matrices ITO, suponiendo equilibrio de Hardy-Weinberg. Las frecuencias genéticas se estimaron con el método de maximaverosimilitud. En el sistema ABO los malformados presentan un exceso de parejas O-B y un déficit de pares B-B. En el sistema Rh, los recién nacidos malformados presentan un exceso de pares Rh(-)-Rh(-) y un déficit de parejas Rh(+)-Rh(-).

Trabajo parcialmente financiado por proyecto Fondecyt 880040 y DTI B2490/8823.

ALTERACIONES EN HAMSTER Mesocricetus auratus, LUEGO DE EXPOSICION PRENATAL AL ALCOHOL. ANALISIS MORFOLOGICO DE SU ACCION. (Alterations in hamster Mesocricetus auratus following prenatal alcohol exposure. Morphological analysis of its action). Coloma S., L. A. Departamento Histología y Embriología. Universidad de Concepción.

En humanos y modelos animales, el consumo materno de etanol durante el embarazo da por resultado una dismorfogénesis característica en los embriones y fetos en desarrollo. Como un intento de definir los daños que resultaron de la exposición aguda prenatal al alcohol, se analizaron embriones y recién nacidos de M. auratus.

Hembras en el octavo día de gestación se inyectaron intraperitonealmente con dosis agudas de etanol calculada según peso y las controles con dosis de solución isocalórica de sacarosa. Los embriones se extrajeron a los 11 días de desarrollo y otro grupo completaron su gestación de 16 días. Embriones y recién nacidos fueron analizados y comparados morfológicamente.

Se encontró notorias diferencias morfológicas externas e internas al comparar controles con tratados, estos últimos presentaron menor peso, retraso del crecimiento pre y post natal, menor desarrollo de sus órganos craneofaciales que fueron por esto los más estudiados (cráneo, globo ocular, párpados, yemas dentarias, lengua, mamezones faciales, etc.).

Los resultados demuestran que la administración aguda de etanol en el octavo día de la gestación provocó trastornos precoces del desarrollo, reducción del peso corporal, diferenciación tisular retardada, lo que implicaría un aumento en la incidencia de malformaciones.

Proyecto 203903 Dirección Investigación. Universidad de Concepción.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO DE DOS ATERINIDOS LIMNICOS (PISCES TELEOSTEI). (Effect of temperature on the embryonic development of two limnic atherinids (pisces Teleostei). Comte, Sh., Contreras, M., y Vila, I. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Estudios recientes indican que los peces pueden tener la capacidad de modificar su desarrollo embrionario ante cambios ambientales. De éstos, los más importantes corresponden a la temperatura y el caudal de agua (Mosser, 1984). Por tanto, es de gran interés estudiar las adaptaciones que puede presentar el desarrollo embrionario de especies filogenéticamente relacionadas; es el caso de *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes), que habita ambientes lenticos, y *Basilichthys microlepidotus* (Jenyns), de distribución lótica.

Se determinó las características del desarrollo embrionario y el efecto de la temperatura en huevos obtenidos por masaje abdominal e inseminados y cultivados en el laboratorio a temperaturas de 14° y 20°C. Los embriones se estudiaron *in vivo* o después de fijados y teñidos con azul de metileno.

El desarrollo embrionario se dividió en 3 etapas y 13 estados: segmentación (estados 1-5), gastrulación e inicio de la diferenciación (estados 6-8) y morfogénesis y crecimiento (estados 9-13). A 20°C, *B. microlepidotus* completa su desarrollo entre 330-470 hrs, 60% más lento que *O. bonariensis*, que lo hace en 220-280 hrs. Esta diferencia afecta principalmente el tiempo usado en completar la última etapa, particularmente el estado 13. A 14°C el tiempo utilizado en el desarrollo de *B. microlepidotus* aumenta a 520-570 hrs (40% de incremento), mientras en *O. bonariensis* aumenta a 360-550 hrs (90% de incremento). Así, el descenso de temperatura afecta diferentemente el tiempo de desarrollo de estas especies, tal vez por la existencia de mecanismos de adaptación embrionaria distintos relacionados con el habitat de cada especie.

Proyectos FONDECYT 0862-89 y D.T.I. N 2450-/8833.

RECEPTORES PARA NEUROTENSINA EN EL TRACTO GASTROINTESTINAL: ESTUDIO CON ANALOGOS ESTRUCTURALES. (Neurotensin receptors in the GI tract: a study with structural analogs).

L. Constandil, R. Carraway y JP. Huidobro-Toro, Depto. Cs. Fisiológicas, P. Universidad Católica y Dpt. of Physiology, University of Massachusetts, Worcester, MA, USA.

Estudios inmunohistoquímicos muestran neurotensina (NT) en el cerebro y en las células N en el epitelio gastrointestinal. En el cerebro, el péptido actúa probablemente como neurotransmisor. La función fisiológica de la NT intestinal permanece desconocida. Para caracterizar los receptores de NT en la musculatura lisa intestinal se sintetizaron, usando soporte en fase sólida, dos clases de analogos estructurales del fragmento NT8-13, el que conserva la potencia del péptido nativo: 1. Péptidos enriquecidos en aminoácidos básicos en el extremo amino terminal, 2. Péptidos enriquecidos en aminoácidos aromáticos en el extremo carboxilo terminal. La miorelajación se estudió en el ileo y la actividad contactil en trozos del estómago de rata, registrando la actividad muscular isométrica con un conductor acoplado a un registro poligráfico. Los resultados indican que mientras algunos analogos del grupo 1 tienen potencia biológica 2-5 veces mayor que NT o NT8-13, los péptidos del grupo 2 pierden actividad como agonistas sin adquirir propiedades antagonistas. Se concluye que: 1-Al igual que en el caso del receptor de medicamina, los aminoácidos básicos en el extremo amino terminal de NT aumentan la afinidad del ligando por su receptor. 2-El extremo carboxilo terminal no puede modificarse sin perderse la afinidad de NT por su receptor. FINANCIAMIENTO: FONDECYT 326/88.

EFFECTO DE COLCHICINA SOBRE LAS CELULAS ADPasa POSITIVAS DE EPIDERMIS DE RATONES CON DERMATITIS POR CONTACTO. (Effect of colchicine on ADPase-positive cells in the mouse epidermis with contact dermatitis). Concha M. y Garcés G. Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.

La célula de Langerhans (CL) es una célula que ubica da en la epidermis es capaz de captar y presentar antígenos al linfocito T. Una evidencia de esta función es la interrelación física que ocurre entre CL y linfocitos en la dermatitis por contacto experimental. En el presente trabajo se investiga, utilizando láminas epiteliales, el efecto de colchicina sobre densidad de CL y su yuxtaposición con linfocitos en dermatitis por contacto.

Ratones RK estimulados en sus orejas con 2,4-dinitro fluorobenceno recibieron, 24 hrs más tarde, colchicina iv. en dosis única de 0.05, 0.5 y 5 µg/gr. p.c.; sacrificándolos 24 y 48 hrs después de inoculados. Las láminas de epidermis de orejas experimentales y controles fueron obtenidas mediante incubación en EDTA-Na<sub>2</sub> 20 mM y tripsina 0.05%. Las CL fueron reveladas con la técnica de la adenosina difosfatasa (ADPasa), fijando las láminas con paraformaldehído 2%, incubándolas en una solución de ADP-Pb y revelando con sulfuro de amonio 1%. Las células fueron contadas y expresadas como células ADPasa positivas/mm<sup>2</sup> SEM. Después del recuento, algunas láminas fueron incluidas para su estudio a microscopía óptica y electrónica. (MO y ME). También se procesaron muestras de orejas de animales tratados en la forma descrita, directamente para su análisis a ME.

Los resultados obtenidos indican que colchicina induce la formación de nidos de células ADPasa positivas en la dermatitis por contacto experimental. Colchicina, utilizada en dosis bajas, podría modular las interacciones celulares durante el desarrollo de la dermatitis por contacto.

Financiado por Proyectos Fondecyt 89-0198 y Dir. Inv. U.A.Ch. 8-89-16.

ANALOGOS DE ADENOSINA DISMINUYEN EL DESARROLLO DE TOLERANCIA Y LA DEPENDENCIA FISICA DE BENZODIAZEPINAS. (Adenosine analogs decrease tolerance development and physical dependence on benzodiazepines). E. Contreras y A. Germany. Farmacología, Depto. Ciencias Fisiológicas, Universidad de Concepción.

La administración diaria de alprazolam y de clorazepam induce tolerancia y dependencia física en el ratón, observándose resultados similares mediante la administración de alprazolam en un preparado de absorción lenta. En este trabajo se estudia la influencia de los agonistas purinérgicos cloroadenosina (ClAd), L-fenil-isopropil-adenosina (L-PIA) y D-fenil-isopropil-adenosina (D-PIA), así como el antagonista teofilina sobre el desarrollo de tolerancia y de dependencia física en el ratón frente a la administración crónica de alprazolam.

Se emplearon ratones hembras a los que se inyectó alprazolam en dos dosis de 100 mg/kg administradas con un intervalo de 4 días. La intensidad de la tolerancia se determinó mediante el procedimiento de la escalera y la medición del déficit motor inducido por una dosis test de alprazolam en el comportamiento de ratones en una rejilla vertical.

La intensidad de la tolerancia disminuyó significativamente, lo que se detectó por lo menos en uno de los dos procedimientos de estudio, cuando los ratones recibieron un tratamiento diario con L-PIA, ClAd y teofilina, en tanto que D-PIA resultó inefectiva. El síndrome de abstinencia inducido por flumazenil en ratones tratados con alprazolam fue atenuado mediante la administración de L-PIA, en cambio los analogos ClAd y D-PIA, así como el antagonista purinérgico teofilina fueron inefectivos.

Los resultados sugieren la participación de adenosina en los procesos contraadaptativos inducidos por la administración crónica de benzodiazepinas.

Proyec. 20.33.29 Dirección de Investigación, U. de Concepción.  
Proyecto 0699-89 FONDECYT.

DESARROLLO DENDRITICO DE LOS NUCLEOS HIPOGLOSO MAYOR Y OLIVA BULBAR EN EL SINDROME DE MUERTE SUBITA, DEL LACTANTE (SMSI) (Dendritic development of the Hypoglossus and inferior Olfactory Nuclei in Sudden Infant Death Syndrome (SIDS) Cordero, M.E., D'Acuña, E., Benveniste, S., Gutiérrez, C. y Trejo, M.E. Departamentos de Morfología Experimental y de Anatomía, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (Patrocinio: M.A. Montenegro).

La fisiopatología del SMSI es aún desconocida. A pesar que una causa multifactorial parece posible, es necesario determinar los factores más importantes. Entre éstos, existen evidencias de una disfunción neonatal del cerebro. Anormalidad en la regulación de la respiración, temperatura, del despertar y en los test neurológicos son frecuentes en estos niños. Cambios en la maduración de neuronas de los centros respiratorios y de la formación reticular han sido también reportados.

En el presente trabajo se estudian en lactantes fallecidos por una causa conocida (bronconeumonía) y en víctimas del SMSI, las dendritas de dos tipos neuronales: de patrón especializado (Oliva Bulbar) y generalizado (Hipoploso mayor).

El método de Golgi Cox y morfometría se usaron para estudiar las características dendroarquitectónicas de las neuronas del núcleo hipogloso mayor y de la Oliva Bulbar. Secciones de 120  $\mu$  practicadas a nivel medio de la Oliva se tiñeron y dibujaron de cada núcleo 20 células por caso, con la ayuda de cámara lúcida y 400 x. Al comparar el grupo control vs. el víctima de SMSI, se observaron cambios en el patrón de las dendritas, tanto en el grado de maduración como en la densidad dendrítica, además de una intensa gliosis.

Estas modificaciones de la arborización dendrítica podrían considerarse como un sustrato anatómico inmaduro, sugiriendo una alteración de la ontogenia del Bulbo Raquídeo en su conjunto y no sólo de los centros vinculados con la función respiratoria en las víctimas del SMSI.

Proyecto Clave 2900/8814 D.T.I., Universidad de Chile.

ESTUDIO DINAMICO DEL COMPONENTE COLAGENO EN PREIDENTINA. (Dynamic study of the collagen component in the predentin). E. Couve. Departamento de Biología, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

Se ha demostrado previamente que la matriz extracelular que conforma la preidentina varía durante el proceso de dentinogénesis. En el presente trabajo se estudian en forma dinámica los cambios en la organización y síntesis del componente colágeno en preidentina de incisivos de rata. Se analizaron cuatro regiones de los incisivos, las cuales representan toda la vida secretora de odontoblastos.

Se observa que el espesor de preidentina decrece significativamente a través del proceso formativo de la dentina (23,15 a 7,59  $\mu$ m). A nivel ultraestructural la matriz de fibras colágenas aumenta su densidad a medida que el proceso dentinogénico se desarrolla. El análisis mediante procedimientos autorradiográficos, muestra que posterior a las 4 hr de inyectar prolina-3H, a nivel de preidentina no se observan diferencias significativas en el recuento de granos radioautográficos entre las cuatro regiones estudiadas. Se detecta una reducción significativa de la síntesis de colágeno hacia el estado secretor terminal de odontoblastos.

Estos resultados sugieren que la expresión secretora de odontoblastos varía a través del proceso formativo de la dentina, determinando cambios en la morfología y composición de la preidentina. Es posible concluir que la síntesis del componente colágeno no muestra cambios significativos durante la dentinogénesis, considerando además que los cambios observados en la organización de las fibras colágenas pueden ser relacionados con variaciones en los patrones de mineralización dentinaria.

Proyecto N° U.V. 5/87 - D.I.C.T.

MORFOLOGIA DEL PASAJE NASAL DE ROEDORES DE HABITAT XERICO: IMPLICANCIA EN LA CONSERVACION DEL AGUA CORPORAL. (Morphology of the nasal cavity in desert rodents: Its importance to water conservation.) Cortés, A. Depto. Biología y Química, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena. (Patrocinio: L.C. Contreras)

El metabolismo hídrico de los roedores *Octodon degus* (Od), *Abrothrix olivaceus* (Ao), *Phyllotis darwini* (Pd) y *Oryzomys longicaudatus* (Ol), indican que la menor dependencia de agua exógena está asociada principalmente a una reducción de la evaporación pulmo-cutánea. Esta condición posiblemente es consecuencia de cambios morfológicos del pasaje nasal que incide en el grado de eficiencia del mecanismo de contracorriente de calor.

Con el fin de testar la hipótesis, se evaluaron: 1) tasas mínimas de evaporación (E), 2) rasgos topográficos de la fosa nasal, 3) se calculó un índice morfométrico de condensación de agua (Ic). Los resultados indican que: 1) Od, Ao, Pd, y Ol, pierden 1.0, 1.7, 2.4, y 3.6 mg/gh, respectivamente, 2) la topografía del pasaje nasal es altamente tortuosa especialmente en Od y Ao. Los valores de Ic en Od, Ao, Pd y Ol son 14.9, 12.1, 8.8 y 7.3  $g \cdot 0.26$ , respectivamente y 3) la evaporación de estas especies se correlaciona significativamente con Ic:  $\log E = 2.0 - 1.7 \log Ic$ . Estos resultados son consistentes con la hipótesis propuesta, indicando que los rasgos morfológicos que definen Ic, tienen un rol importante en la conservación del agua proveniente del tracto respiratorio. (Financiado: FONDECYT 88-1013).

EFECTO DE LA PREINCUBACION EN LA CAPACIDAD DEL PLASMA HUMANO PARA GENERAR PEPSANURINA. (Effect of preincubation on the ability of human plasma to generate pepsanurin). Croxatto H.R., Albertini R.A., Silva R. y Vergara T., Departamento de Ciencias Fisiológicas, F.C.C.B.B., P. Universidad Católica de Chile.

La pepsanurina (PU) es un péptido(s) producido por hidrólisis péptica de globulinas plasmáticas, que antagoniza específicamente el efecto diurético/saluretico del Factor Natriurético Atrial (ANP) o de la sobrecarga salina. El precursor plasmático y la posible generación endógena de PU son aun desconocidos, por esto estudiamos la capacidad del plasma para generar PU en varias condiciones de preincubación.

PU control se obtuvo de plasma humano fresco sometido a: 1) diálisis vs agua destilada (18hr 4C), 2) incubación con pepsina (0.75 mg/ml 18hr 37C), 3) calentamiento (10 min 80C) y centrifugación (3.000g). Las variaciones consistieron en intercalar períodos de preincubación a 37 ó 4 C, en presencia de antibióticos. Ensayo: en ratas anestesiadas se dieron dos bolos de ANP (0.5  $\mu$ g iv) antes y después de inyectar PU (0.5 ml/100g ip) y se midió la inhibición (p t-test) en la excreción de agua (IU) y sodio (IUNA).

La PU control produjo un 50-70% IU y 65-80% IUNA (8 casos, 36 ratas, p<0.01). El mismo plasma preincubado 48 hrs a 37 C entre las etapas 1 y 2, no causó IU ni IUNA (8 casos, 40 ratas, n.s.). Sin embargo, al preincubar 48 hr a 4 C entre dichas etapas, se mantuvo la capacidad de generar PU (IU=75%, IUNA=80%, 3 casos, 12 ratas, p<0.01). Tampoco se perdió actividad al preincubar una semana a 37 C, antes de la etapa 1 (IU=51%, IUNA=64%, 3 casos, 13 ratas, p<0.01).

Estos resultados son compatibles con la idea que el plasma contiene un sustrato específico que es anotado por una acción enzimática endógena, aparentemente inactiva en condiciones normales y activable por diálisis. El efecto de diversos inhibidores de peptidasas sobre este sistema se encuentra en estudio.

Financiado por Proyectos FONDECYT 642/89 y 383/88.

**INACTIVACION DE LA  $\alpha$ -QUIMOTRIPSINA POR DIMBOA.** (Inactivation of  $\alpha$ -chymotrypsin by DIMBOA). Cuevas, L., Niemeyer, H.M. y Pérez, F.J., Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

2,4-dihidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-one (DIMBOA), el principal ácido hidroxámico del maíz y otros cereales, ha sido involucrado como un factor de resistencia contra el insecto taladrador del maíz (ECB) *Ostrinia nubilalis*. Estudios toxicocinéticos realizados con DIMBOA-<sup>3</sup>H sugieren que la toxicidad de este compuesto se debería a la inhibición de enzimas digestivas presentes en el tracto intestinal del ECB. En este trabajo se estudió la reacción del DIMBOA con  $\alpha$ -quimotripsina, como modelo de una enzima digestiva.

Los resultados que se presentan indican:

- DIMBOA inactiva la  $\alpha$ -quimotripsina
- La cinética de inactivación fue ajustada a un modelo que considera la descomposición espontánea del inactivador.
- El análisis de aminoácidos de la enzima modificada señala cambios significativos de los residuos de lisina y serina en relación a la enzima nativa.
- La pérdida de actividad es proporcional a la pérdida del título de la ser-195 del sitio activo.

**PRODUCCION Y PURIFICACION PARCIAL DE B-GLUCOSIDASA DE CHRYSONILIA SITOPHILA TBF-27441.** (Chrysonilia sitophila B-Glucosidase: Production and partial purification). Curotto, E., O'Reilly, S., Salinas, N. y Madariaga L. Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso.

La enzima B-glucosidasa (B-D-glucósido glucohidrolasa EC 3.2.1.21) ha sido descrita en hongos y bacterias. El interés reciente por esta enzima se basa en su rol en la hidrólisis enzimática de celulosa. La velocidad y la extensión de la hidrólisis de celulosa puede ser aumentada suplementando las celulasas comerciales con B-glucosidasa.

En esta investigación se utiliza el hongo *C. sitophila* aislado de macerados del insecto *Tribolium ferrugineum* encontrado en cáscaras de arroz.

Se estudia la producción de B-glucosidasa extracelular en un medio líquido utilizando celobiosa y aserrín de *Pinus radiata* pretreatado como inductores en presencia de peptona.

Se caracteriza parcialmente la actividad enzimática en los extractos presentando un pH óptimo entre 4,6 y 5,0 y una mayor actividad alrededor de 60°C en las condiciones de ensayo. Ambos crudos son estables entre pH 4,5 y 7,0 a 40°C en el tiempo de ensayo. La estabilidad en el tiempo (140 min) a pH 4,6 y 55°C muestra recuperación de la actividad original, a 60 y 62,5°C presenta inactivación.

Se purifica parcialmente la enzima de los extractos mediante precipitación con etanol (30% v/v), cromatografía de exclusión (Fractogel HW 65 y Bondapax I 125) y cromatografía de intercambio iónico (DEAE Sephadex A-25, gradiente lineal de NaCl).

**DISTRIBUCION DE PROTEINAS CITOESQUELETICAS EN GLANDULAS GASTRICAS DE VERTEBRADO. ESTUDIO COMPARATIVO.** (Distribution of cytoskeletal proteins in vertebrate gastric mucosa. A comparative study). Dahlitz, M. Depto Biología Celular, Fac. Ciencias Biológicas, P. U. Católica de Chile.

El estómago de mamíferos presenta células parietales (CP) que secretan HCl y zimógenos (CZ). En aves y anfibios, la célula acínico-peptica (CDP) desempeña ambas funciones. CP y CDP experimentan reorganización de las membranas secretoras y matriz citoplasmica en relación a la producción de HCl presentando, sin embargo, una forma celular y ubicación del polo secretor diferente. En CP este forma un canalículo intracelular, en CDP de ave un surco pericelular y en anfibios se localiza en el polo luminal. Experimentos previos sugieren que la reorganización ultraestructural del polo secretor estaría mediada por proteínas citoesqueleticas.

Se estudió la distribución de miosina (M), filonina (F), actina (A) y citoqueratina (CQ), en CDP de ave y CP y CZ de rata, con el fin de establecer su participación en los cambios de forma asociados al ciclo secretor de HCl. Su localización se relacionó con la ubicación del polo secretor en cada variedad celular y con la redistribución de membranas. Mediante inmunofluorescencia indirecta y microscopía electrónica, se demuestra que en aves y anfibios M, F, A, y CQ se concentran formando un anillo apical periférico. Además, en ambas especies, CQ se dispone como una red fibrilar cortical. En anfibios además, F aparece estructurando el cortex luminal y modificando su asociación con A en relación al proceso secretor. En CP el citoplasma de una reacción positiva intensa para F y M, apareciendo el borde del canalículo fuertemente inmunoreactivo para M y A. CQ y A estructuran una malla filamentosa cortical. En contraste, en CZ M, F, A y CQ se concentran solo en el borde luminal.

La clara correlación entre movilidad celular y proteínas citoesqueleticas, sugiere que los drásticos cambios de forma que experimentan las células secretoras de HCl estarían mediados por un sistema actomiosina y proteínas regulatorias. La CQ estabilizaría el citoplasma celular no sujeto a modificaciones estructurales. M, F, y A, concentradas en el polo luminal de CDP y CZ participarían en la extrusión de gránulos de zimógeno.

**EFFECTO DE LA ALIMENTACION SOBRE LA LONGEVIDAD DE ADULTOS DE *Pseudopachymerina spinipes* (Fr.).** Feeding effects on adult longevity of *Pseudopachymerina spinipes* (Fr.). Daza, N. Sección Ecología, Universidad Católica de Valparaíso.

*P. spinipes* es un bráquido que parasita semillas de *Acacia gaven*. Tradicionalmente se ha creído que los adultos, después de emerger, no ingieren alimentos ni agua. Durante esta fase la energía almacenada es utilizada, principalmente en actividades reproductivas, lo que determina una disminución del peso corporal (alrededor del 40%) y longevidades de aproximadamente de 18 días. En otros bráquidos se ha observado consumo, principalmente de néctar y agua. Si *P. spinipes* adoptara alguna de estas conductas, se esperaría una mayor longevidad y una pérdida de peso corporal de menor nivel.

El objetivo del presente trabajo es determinar si los adultos de *P. spinipes* ingieren alimento y agua estimándolo a través del efecto sobre la longevidad y cambio de biomasa individual.

El diseño muestral consideró los siguientes aspectos: Tres condiciones alimentarias (sin recurso, con agua y una solución de sacarosa al 20% p/v). En cada condición se dispuso de hembras y machos recién emergidos y aislados inmediatamente, a fin de evitar copulación y una mescla de hembras y machos (proporción de sexos 1:1) para favorecer la fecundación.

A la luz de los resultados obtenidos a la fecha, se acepta la hipótesis sometida a prueba.

CONCENTRACION DE C3 DEL COMPLEMENTO EN SUERO SANGUINEO (SS), SALIVA (Sa) y FLUIDO GINGIVAL (FG) DE PERSONAS SANAS Y CON PERIODONTITIS MARGINAL. (Concentration of C3 of complement in serum, saliva and crevicular fluid from patients with marginal periodontitis and healthy controls). de la Sotta, R.; Mery, C. y Pizzi, T. Facs. de Odontología (asig. periodoncia) y de Medicina (Dpts. de Morfología y Medicina Experimental) U. de Chile.

La presencia de C3 en SS, Sa y FG es un hecho establecido. SS (punción venosa), Sa (total) y FG (téc.intra crevicular de Brill) aportado por un grupo de 10 personas sanas con óptima salud periodontal y otro de 10 pacientes con periodontitis marginal generalizada, se utilizó para hacer las mediciones. Estas se realizaron a través de anticuerpos monoclonales mediante la técnica de inmunodifusión radial según Mancini, método que ofrece una sensibilidad de 1 mgr.%

La cantidad de C3 en el sano fue de 131,8 en SS; 71,45 en Sa y 2,61 en FG, y en el enfermo: 190,75; 1,95 y 5,4 mgrs.% respectivamente. Igs A, M y G determinadas (en trabajo paralelo, mismos pacientes y Técnica) dió 1896,2 (SS), 13,71 (Sa) y 48,91 (FG) en sanos y 2480,12; 43,86 y 100,35 mgrs.% respectivamente en enfermos.

Las Igs como C3 están llamativamente aumentadas en SS y FG del enfermo, existiendo también aumento de Igs en Sa y dramática disminución de C3. Igs en Sa provienen de glándulas salivales y FG, quien también le aporta C3. Aumento de C3 en FG del enfermo debiera reflejarse en Sa, contrariamente existe abismante disminución de 71,45 a 1,95 mgrs.% señalándonos que existe alto consumo de C3 en tejidos periodontales o dentro del saco. Ello podría explicarse: a) destrucción enzimática de C3 por proteasas de origen microbiano, b) empleo de C3 como metabolito por las bacterias del saco, y c) ruptura de C3 a través de la vía alterna del complemento. Si alguno de estos mecanismos fuese el operativo, la medición de C3 en Sa pudiera constituirse en un reflejo de la actividad de la enfermedad periodontal.

LOCALIZACION INMUNOCITOQUIMICA DE ISOTIPOS DE  $\alpha$ -TUBULINA EN MACROFAGOS (Immunocytochemistry Localization of Isoforms Types of  $\alpha$ -tubulin in Macrophages). Del Caro, L.M(1,2), y De Souza, W.(2). - Depto. Histología y Embriología & Depto. Parasitología y Biotífica Celular - UFRJ, Brasil.

Acetylation of  $\alpha$ -tubulin has been observed in axonemal microtubules, and it seems to be involved in determining microtubule stability. We tried to evidenciate the presence of acetylated and non-acetylated  $\alpha$ -tubulin in microtubules of mouse macrophages by Immunofluorescence and E.M. We used monoclonal antibodies specific for these two isoforms types of  $\alpha$ -tubulin in peritoneal macrophages adhered and attached on grids. Cells were washed in Pipes, enriched with  $MgCl_2$ , EGTA and glycerol, and treated with Triton. Cells were incubated in presence of monoclonal antibodies that recognize acetylated  $\alpha$ -tubulin or both acetylated and non-acetylated  $\alpha$ -tubulin. Then were incubated in presence of GAM IgG fluorescein conjugate (O.M.) or GAM IgG gold conjugate (E.M.). Intense fluorescence was localized in cell body incubated with monoclonal antibody that recognizes  $\alpha$ -tubulin isoforms. Examination by E.M. of extracted cells incubated in presence of this antibody, and subsequently with gold conjugated antibody showed intense labeling of all portions of the cell body, with major labeling near centrioles and at cell periphery. Cytoskeleton incubated with monoclonal antibodies which recognize only acetylated  $\alpha$ -tubulin showed a clear labeling of cytoplasmic microtubules located near the centrioles. Because of the microscope resolution, it was not possible to individualize each microtubule by fluorescence microscope. We suggest that the presence of microtubules that contain acetylated  $\alpha$ -tubulin near the centrioles makes this cytoskeletal region more stable. Supported by: CNPq and FINEP.

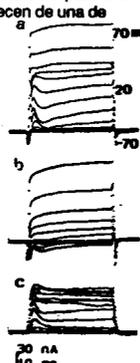
LA REPLICACION SECUENCIAL DEL GENOMA VEGETAL Y SU RESPUESTA A LA HIPOXIA. (Sequential replication of plant genome and its response to hypoxia). De la Torre, C., Giménez-Abián, M.I. y López-Sáez, J.F.\*. Centro de Investigaciones Biológicas, C.S.I.C., Velázquez, 144. 28006-Madrid, España, y \*Depto. de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma. 280. -Madrid, España.

El periodo de replicación, junto con el G, son las fases del ciclo que presentan un mayor requerimiento energético, como se ve al medir el alargamiento que se produce en os situaciones con grado distinto de hipoxia (5 y 10% de  $O_2$ ) frente al control (21%  $O_2$ ), tanto en la respuesta al cambio como en situaciones de equilibrio proliferativo.

La respuesta a la hipoxia no es homogénea a lo largo del periodo S, ya que el último tercio del S ( $S_3$ ) se alarga 2.9 veces al 5% de  $O_2$ , el centro del S ( $S_2$ ) 1.4 veces y el primer tercio del S ( $S_1$ ) apenas se modifica. Esta heterogeneidad de respuesta a la hipoxia, como a otras condiciones exponenciales (hipersensibilidad del S a hidroxiaurea y del S a 5-aminouracilo) sugiere importantes diferencias en replicación temprana, media y tardía. La replicación tardía en este material comprende la replicación de regiones centroméricas y teloméricas, mientras que no se han detectado secuencias específicas de replicación temprana o media.

DISECCION FARMACOLOGICA DE LAS CORRIENTES DE  $K^+$  EN FIBRAS MUSCULARES DE LA LARVA DE LA *Drosophila melanogaster*. (Pharmacological characteristics of  $K^+$  currents in larval muscle fibers from *Drosophila melanogaster*). Ricardo Delgado, Pedro Labarca, Ramón Latorre y Enrico Stefani. Depto. de Biología, Fac. de Ciencias, U. de Chile, Centro de Estudios Científicos de Santiago, Dept. Physiology, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, EE. UU.

Cinco corrientes iónicas han sido descritas en fibras musculares de la larva de la *Drosophila melanogaster*: una corriente de  $Ca^{2+}$  y cuatro de  $K^+$ , de las cuales dos son transientes ( $I_A$  y  $I_{A,slow}$ ) y dos mantenidas ( $I_K$  y  $I_C$ ).  $I_{A,slow}$  y  $I_C$  son dependientes de calcio. Una separación de estas corrientes usando toxinas específicas es importante ya que permitirá un estudio cinético detallado de las mismas y abre el camino para una comparación electrofisiológica con mutantes que carecen de una de ellas. La fig. a muestra registros de corriente obtenidos en una fibra muscular bañada en Ringer hipertónico (NaCl 128 mM, KCl 2 mM,  $CaCl_2$  1,8 mM,  $MgCl_2$  4 mM, sacarosa 350 mM, 5 mM HEPES, pH 7) mediante la técnica de voltaje controlado de dos microelectrodos. Los registros muestran un componente de corriente de salida transiente que va desapareciendo a medida que la fibra se despolariza y uno mantenido. El potencial de inversión de ambos componentes es  $\approx -60$  mV lo que indica que se trata de corrientes de  $K^+$ . Los registros que se muestran en la figura b se obtuvieron en presencia de caribotoxina (CTX) 100 nM. Los componentes de la corriente sensibles a CTX (registros en a - registros en b) se muestran en la figura c. La CTX bloquea totalmente el componente transiente y parcialmente elimina el componente tardío mantenido. Estos estudios sugieren que CTX, una toxina que se ha descrito como un inhibidor de canales de  $K^+$  activados por  $Ca^{2+}$ , inhibe las corrientes  $I_A$ ,  $I_{A,slow}$  y  $I_C$  presentes en la larva de la *Drosophila*.



Finaciado por NIH grant GM-35981, Proyecto FONDECYT 88/1167.

**AISLACION Y CARACTERIZACION DE GENES MITOCONDRIALES DE Solanum tuberosum. (Isolation and characterization of Solanum tuberosum mitochondrial genes) Dell'Orto, P., Zanlungo, S. y Jordana, X. Unidad de Microbiología y Genética Molecular, Fac. Cs. Biol., P. Universidad Católica de Chile.**

La biogénesis mitocondrial está controlada tanto por genes nucleares como mitocondriales cuya expresión debe estar coordinada. Nuestro objetivo es la caracterización del genoma mitocondrial (mt DNA) de *S. tuberosum* y el estudio de la regulación de su expresión. En plantas superiores el mt DNA es mucho más grande y complejo que en otros organismos, pero no tiene una capacidad codificante significativamente mayor. Muy poco se sabe de la estructura y expresión del mt DNA de *S. tuberosum*, una especie importante en la agricultura mundial y nacional.

Se describe en este trabajo la aislación de los genes mitocondriales que codifican para el apocitocromo b (cob) y para la subunidad 9 de la ATP sintetasa (atp9). Se han escogido estas proteínas como modelos porque forman parte de complejos que tienen otras subunidades codificadas en el núcleo.

Se determinaron por el método de Southern, las condiciones adecuadas de hibridación molecular del mt DNA con una sonda cob de trigo y con una sonda oligonucleotídica de atp9 (30-mero), ambas marcadas radiactivamente con <sup>32</sup>P. Se determinó que la sonda de cob hibrida con fragmentos EcoRI de 5 Kb y de 1,4-1,6 Kb, y la sonda atp9 con fragmentos EcoRI de 7,6 Kb, 4,9 Kb y 1,0 Kb. Para clonar estos fragmentos se construyeron dos genotecas de mt DNA en plásmidos: una digiriendo con EcoRI y otra con Sall. Se ensayó la genoteca EcoRI por hibridación molecular con las sondas de cob y atp9, aislándose clones que contenían los fragmentos EcoRI buscados. Se caracterizaron estos fragmentos, estableciéndose un mapa de restricción de cada uno de ellos para determinar la relación entre ellos, y para su posterior secuenciación. Estos genes serán además utilizados en ensayos de transcripción in vitro.

**IDENTIFICACION DEL SISTEMA RECEPTOR QUE MEDIA LA ACCION DEL SG EN MUSCULO LISO DE TRAQUEA Y AORTA DE RATA. (Identification of a receptor system, that mediates SG, action in smooth muscles from rat's trachea and aorta). DEJIX, M.S., ARAYA, B., BRAVO, J. y ALVAREZ, A. Fac. Cs. de la Salud, Universidad de Antofagasta.**

En el estudio de metabolitos con principios bioactivos obtenidos de plantas con efectos medicinales, es importante elucidar el mecanismo de acción involucrado; como parte esencial en el estudio básico de estos productos con eventual uso farmacológico.

Estudios anteriores muestran que el derivado de p-hidroxiacetofenona (SG), obtenido del *Senecio graveolens* presenta un efecto hipotensor y broncodilatador en animal entero y órgano aislado de rata. En este trabajo se identifica el sistema receptor que media los efectos del metabolito, utilizando agonistas, antagonistas y efectores del sistema B-adrenérgico.

Se evaluó mediante poligrafía en cintas de tráquea y aorta de rata, el efecto del SG, en una curva dosis respuesta y en presencia de antagonista y efectores del sistema B-adrenérgico.

Los resultados obtenidos indican que el SG, presenta un efecto relajador (30%) dosis dependientes ( $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  M) en tráquea y aorta de rata. Utilizando SG ( $10^{-5}$  M) en presencia de los antagonistas propranolol y atenolol ( $10^{-5}$  M), se observa que la relajación provocada por SG, es bloqueada en un 60% por propranolol en ambos tejidos y 21 y 70% en tráquea y aorta con atenolol. En ambos tejidos la teofilina potencia el efecto relajador del SG, en un 30%. En arteria la N-etilmaleimida suprime este efecto en un 67%. Estas evidencias confirman que la relajación provocada por SG, en la musculatura lisa de tráquea y aorta de rata es mediada por el sistema receptor B-Adrenérgico-Adenilato ciclasa, con el aumento consecuente de los niveles intracelulares de AMPc, lo que deprime la respuesta contráctil del músculo y provoca la relajación, efecto similar al de salbutamol e Isopreteterol utilizados como compuestos de referencia.

(Proyecto DGIEXAT, UNIVERSIDAD DE ANTOFAGASTA)

**SINTESIS DE PROGESTERONA EN CELULAS LUTEAS HUMANAS: MECANISMO DE INHIBICION DE LA 4-HIDROXIANDROSTENO-3,17-DIONA (4 OHA). (Progesterone synthesis by human luteal cells: Inhibitory mechanism of 4 Hydroxyandrostene-3,17-Dione). Devoto, L. y Kohen, P. Inst. Inv. Materno Infantil, Dpto. Ob/Ginecol. H.P. Jaraquemada, Fac. Medicina. U. de Chile. (Patrocinio: L. Valladares).**

La 4 OHA es un inhibidor competitivo de la aromatasas. En trabajos previos hemos confirmado la acción inhibitoria de 4OHA en la síntesis de estradiol (E<sub>2</sub>) y hemos demostrado que la 4OHA (1 µM) en cultivos de células lúteas (24 h) inhibe 50 % la síntesis basal de progesterona (P<sub>4</sub>) y la estimulada por hCG. El presente trabajo pretende establecer el mecanismo inhibitorio de 4OHA en la síntesis de P<sub>4</sub> en células lúteas humanas en fase intermedia. La obtención de estas células se realizó según metodología ya descrita (Fert Steril 51:628, 1989). Las células lúteas se cultivaron por 24 h con los factores: hCG (10 UI/ml), 4OHA (1 µM), Bu<sub>2</sub>cAMP (1 µM), pregnenolona (P<sub>5</sub>; 0,1 µM) y 20αhidroxiprogesterona (20αOHP<sub>4</sub>) fueron previamente purificados por columnas de LH-20. P<sub>4</sub>, E<sub>2</sub>, P<sub>5</sub> y 20αOHP<sub>4</sub> se determinaron por RIA específicos. Los resultados muestran que la síntesis basal de los esteroides es (ng/10<sup>6</sup> cel/ 24 h): P<sub>5</sub>: 73,6; P<sub>4</sub>: 37,8; 20αOHP<sub>4</sub>: 5,9; E<sub>2</sub>: 2,2. La síntesis de P<sub>4</sub> es estimulada por hCG (1,4 veces) y Bu<sub>2</sub>cAMP (2,5 veces) y la de 20αOHP<sub>4</sub> 2,1 y 1,4 veces respectivamente. La 4OHA (1 µM) produce 2,4 veces acumulación de P<sub>5</sub> en relación al basal; la concentración de 20 αOHP<sub>4</sub> no se modifica. Con Bu<sub>2</sub>cAMP + 4OHA existe un aumento en la acumulación de P<sub>5</sub> en relación a la 4OHA sola (3,9 vs 2,4), lo que no se visualiza con hCG + 4OHA (2,4 vs 2,4). Con P<sub>5</sub> 0,1 µM la síntesis de P<sub>4</sub> aumenta 3 veces; sin embargo, la inhibición de 4OHA se mantiene en presencia de esta dosis de P<sub>5</sub>. En resumen, estos resultados sugerirían que de preferencia el mecanismo de inhibición de 4OHA en la síntesis de P<sub>4</sub> sería en la transformación de P<sub>5</sub> a P<sub>4</sub>, siendo poco probable que la disminución de P<sub>4</sub> se deba a un déficit de P<sub>5</sub> o a la conversión de P<sub>4</sub> a 20αOHP<sub>4</sub>.

Fondecyt 0870; Rockefeller GAPS 8845

**VARIACION GEOGRAFICA DEL CANTO DE RECHAZO SEXUAL DE Bufo spinulosus (AMPHIBIA-BUFONIDAE). (Geographic variation of Bufo spinulosus release call). Diaz-Barraza, M. y Veloso, A. Depto. Cs. Ecológicas, Fac. Ciencias, U. de Chile.**

Durante la reproducción, *B. spinulosus* emite un canto de rechazo sexual. La señal es especie-específica y al compararse con otras especies congénicas, es útil como complemento a la diagnosis taxonómica. Está compuesta por pulsos cortos y únicos y finaliza con un "trill" de pulsos rápidos. Tiene una estructura estable pero sus parámetros espectrales y temporales varían de acuerdo a la talla de los ejemplares y condiciones físicas de emisión. La variación cuantitativa interpoblacional de estos parámetros no ha sido estudiada.

Se registró mediante grabaciones y analizó mediante oscilogramas, la señal correspondiente a ejemplares de 2 poblaciones de la Zona Norte: Parinacota (4300 m), Putre (3600 m) y Baños Morales (2300 m aprox.) de la Zona Central. Los ejemplares de estas poblaciones muestran diferencias de tallas. Las comparaciones interpoblacionales indican diferencias significativas (p<0.05) de los parámetros de la señal. Los ejemplares de Putre tienen mayor frecuencia dominante y duración del "trill", pero al mismo tiempo notas simples pre y post "trill" de menor duración.

Se discute el significado de la señal en el reconocimiento de sexo y su variación en correspondencia al grado de aislamiento geográfico entre poblaciones.

Financiado Proy. N.2823,DTI, U. de Chile.

POSIBLES VIAS ALTERNATIVAS DE INDUCCION DE SINTESIS DE DNA EN GLANDULA PAROTIDA DE RATON (Possible alternative pathways for the induction of DNA synthesis in mouse parotid gland). Díaz-Bórquez, H., Díaz, N. y López Solís, R.O. Dpto. Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, U. de Chile.

Las glándulas parótidas de ratón estimuladas in vivo por isoproterenol (IPR) o análogos constituye un modelo de estudio de los mecanismos de inducción de proliferación celular. Diversas analogías observadas en la inducción por análogos de IPR sugieren la existencia de una vía común. Sin embargo, también existen diferencias que pudieran corresponder a la expresión de diferentes vías o mecanismos de inducción.

En este trabajo se evalúa esta alternativa mediante el uso de IPR y dicitroisoproterenol (DCI). Tanto DCI como IPR son potentes inductores de proliferación celular, que se asemejan en producir desialilación de la membrana plasmática y se diferencian en que sólo el segundo provoca un rápido (2-3 minutos) y notable (400 veces) incremento en los niveles de cAMP.

Una administración de DCI produce un 60% de la síntesis de DNA inducida por dosis equimolares de IPR. Administrados en forma crónica y diaria, IPR y DCI inducen una respuesta máxima de síntesis de DNA en los primeros 2-3 días. Estas respuestas disminuyen rápidamente hasta que las glándulas parótidas se tornan refractarias en el día 5. Sin embargo, IPR es capaz de reinducir la síntesis de DNA en glándulas tratadas crónicamente con DCI. La intensidad de respuesta en este caso es semejante a la producida por una primera estimulación con IPR.

Los resultados sugieren que la incapacidad de DCI para inducir síntesis de DNA en glándulas tratadas crónicamente con el mismo agonista, no se debería a una alteración de la vía o mecanismo por la que IPR induce la misma respuesta.

Proyectos DTI-U. de Chile B-2366 y FONDECYT 0793-89

OBTENCION DE ANTICUERPOS POLICLONALES ANTIADUCTO FOTOINDUCIDO TRIPTOFANO-RIBOFLAVINA (Obtention of polyclonal anti photoinduced adduct tryptophan-riboflavin antibodies).

Díaz, M. y Silva, E. Laboratorio de Proteínas y Alimentos. Facultad de Química, P. Universidad Católica de Chile.

El descubrimiento de la formación de una unión fotoinducida entre el triptófano y la riboflavina ha permitido explicar tanto la hepatotoxicidad observada en pacientes sometidos a alimentación parenteral como así también la citotoxicidad de medios de cultivo expuestos a la acción de la luz visible. En este trabajo se pretendía la obtención de anticuerpos específicos para este fotoaducto que pudieran ser utilizados en la detección de este compuesto a nivel plasmático o en cualquier sistema biológico o químico en el cual fuera de interés su identificación y aislamiento. Para este efecto se procedió a inducir fotoquímicamente la unión de la riboflavina a los residuos de triptófano presentes en la albúmina de suero de bovino (BSA). La generación del aducto triptófano-riboflavina fue confirmada mediante espectroscopía de absorción y de emisión.

Los sueros obtenidos después de inmunizaciones sucesivas de una coneja con la proteína modificada (BSA-Rb) se titularon utilizando el test de inmunoensayo enzimático ELISA. Los resultados revelan que la respuesta inmune es significativamente mayor en presencia de BSA-Rb en comparación a la obtenida con BSA. Por otra parte la respuesta se fue haciendo cada vez más específica después de cada inmunización. Con el objeto de eliminar la respuesta inmune contra el transportador se purificó el suero recurriendo a una columna de afinidad Sepharosa-BSA. En estas circunstancias el test de ELISA efectuado mostró respuesta específica frente a BSA-Rb. Los resultados obtenidos hasta esta fecha abren perspectivas interesantes para el posterior desarrollo de anticuerpos monoclonales.

Financiado por proyecto FONDECYT 0389/89.

EFFECTO DEL DIFUNDIDO TOTAL DE LA GANGA DE OVOCITOS DE *Bufo arenarum* SOBRE LA CAPACIDAD FECUNDANTE DE ESPERMATOZOIDES HOMOLOGOS. (Effect of egg water of *Bufo arenarum* on the fertilizing capacity of homologous spermatozoa). Díaz Fontdevila, M.E., Bloi, B. y Cabana, M.O. I.N.S.I.B.I.O., Univ. Nac. de Tucumán., Fac. de Cs. Bioq. y Farm., Univ. Nac. de Rosario, Argentina.

La cubierta gelatinosa de ovocitos de *Bufo arenarum* contiene sustancias difusibles, extraíbles en agua destilada o soluciones salinas diluidas, que se denominó Difundido Total (DT). Se sugiere que este difundido activa a los espermatozoides cuando penetran a la gelatina ya que las tiras de ovocitos una vez extraídas no son fecundables, situación que se revierte si al medio se agrega DT.

El DT está formado por glicoproteínas, sales y lípidos. La composición y función de estos últimos está en estudio. Se incubaron espermatozoides de *Bufo arenarum* con DT 5, 120 y 240 min. previos a la inseminación de ovocitos homólogos. Se comprobó que el DT inhibe la capacidad fecundante de los espermatozoides. Se descartó que el efecto sea debido a la osmolaridad del DT (35 mOsm/Kg de agua) ya que los controles realizados en Ringer 10 % de igual osmolaridad que el DT no producía ningún efecto sobre la capacidad fecundante de los espermatozoides. También se descartó el efecto de proteínas activas pues luego de calentar 15 min. el DT a 100°C el efecto inhibitorio continuaba. Se extrajeron lípidos de un DT liofilizado con cloroformo:metanol (1:1) y en este extracto lipídico (ELDT) se determinó la presencia de fosfato y azúcares probablemente de fosfolípidos y glicolípidos. Se incubaron espermatozoides con diferentes concentraciones del ELDT y luego se inseminaron ovocitos homólogos, encontrándose que aún con concentraciones tan bajas como 0,01  $\mu$ moles/l de ELDT, expresado como fosfato el efecto inhibitorio continuaba.

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE ESTRADIOL SOBRE LA ACTIVIDAD MOTORA DE RATAS OVARIECTOMIZADAS (Effects of estradiol administration on motor activity in ovariectomized rats).

Díaz-Veliz, G. y Mora, S. Dpto. Preclínicas. Div. Oriente. Fac. de Medicina. U. de Chile.

En trabajos anteriores hemos demostrado que en la rata hembra se producen modificaciones en conductas motoras espontáneas, las cuales están correlacionadas con las etapas del ciclo estral. El presente trabajo tiene por objeto estudiar la participación del estradiol en dichas modificaciones.

Se utilizaron ratas Sprague-Dawley hembras de aproximadamente 200 gr., las cuales fueron sometidas a castración bajo anestesia éterea. Estradiol fue inyectado 14 días después de la castración, en dosis única de 2 y 20  $\mu$ g/rata. La actividad motora se registró 3, 24, 48 y 72 horas después de la inyección de la hormona o solvente, durante 30 min.

Estradiol produjo efectos asudos sobre las conductas motoras: 3 hrs después de la inyección se produjo un aumento de la motilidad total y levantadas, con ambas dosis. Estos efectos desaparecieron a las 24 hrs y luego se produjo un rebote de la actividad a las 48 y 72 hrs, con la dosis mayor. Las sacudidas de cabeza aumentaron y el tiempo de limpieza disminuyó, a partir de las 24 hrs postinyección. Estradiol ejerce efectos asudos y retardados sobre la conducta, posiblemente por interactuar con dopamina cerebral.

Proyectos FONDECYT 1884/89 y DTI B-2707.

**PRESUPUESTO DE NITROGENO DE *Gambusia affinis*: UNA PRIMERA APROXIMACION.** Nitrogen budget of *Gambusia affinis*: a first level of analysis. Dominguez, P., Cubillos, B. y Araya W. Sección Ecología. Universidad Católica de Valparaíso.

En un ecosistema acuático, los peces cumplen un rol de importancia sea como retenedores de nutrientes al poseer tasas de renovación más bajas que el plancton, o bien como liberadores de nutrientes al no poseer sistemas de retención eficientes (altas pérdidas por egestión y/o excreción).

El nitrógeno es un elemento limitativo de la producción de muchos lagos, presenta diferentes estados de oxidación de manera que puede ser detectado con cierta facilidad; se dispone así de un trazador natural para evaluar flujos de este elemento en el sistema.

*Gambusia affinis* es un pez introducido, de hábitos literales, sus poblaciones son de gran tamaño y tienen un bajo índice de palatabilidad. El objetivo del presente trabajo es evaluar las eficiencias de asimilación y retención de nitrógeno en el estado adulto de *G. affinis*, bajo condiciones de laboratorio.

Los adultos de *G. affinis* fueron alimentados con *Daphnia magna* (ácido conocido de Nitrógeno). La excreción se estimó midiendo el amonio acumulado en los depósitos de excreción, la egestión mediante el análisis de N en las fecas, y por último se midió la cantidad de N en la biomasa del pez. Las escogidas de tiempo fueron las más pequeñas permisibles para evitar interferencias (p.e. crecimiento bacteriano). La experimentación se hizo a 20°C y un promedio de 10 hrs luz.

Se midió las tasas de renovación, eficiencias de retención y asimilación de N en el pez. Se proyectan los resultados para inferir acerca de la participación de *G. affinis* en el presupuesto de N del lago. Proyecto FONDECYT 365/87 y UCV-DGI 122.754/87

**ESTRUCTURA GENETICA DENTRO DE UNA PEQUENA POBLACION DE *ESCHSCHOLZIA CALIFORNICA* CHAM.** (Genetic structure within a small population of *Eschscholzia californica* Cham. Eaton, L. y Pinto, A., Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Univ. de Chile. Una distribución no aleatoria de genotipos dentro de una población de plantas puede producirse, debido a movimiento limitado de polen y/o de semillas. El "dedal de oro" tiene ambas restricciones, por lo cual es un buen modelo para estudiar tales efectos. Se hizo el mapa de las ubicaciones de los individuos presentes en una pequeña población (Chicauma, Región Metropolitana), y se averiguó sus genotipos con respecto a 15 loci enzimáticos. Esta información fue utilizada para buscar evidencia para estructura genética. El análisis de autocorrelación espacial demostró una tendencia de encontrar genotipos idénticos entre vecinos en 5 loci. La población puede dividirse en dos subpoblaciones, con frecuencias alélicas significativamente diferentes en 4 de los loci. El área más recientemente colonizada presenta menos diversidad alélica que la subpoblación más antigua. Dentro de cada subpoblación hay una leve deficiencia de heterocigotos, que alcanza ser significativa solo para ACP-2. Sin embargo, al tratarlo como una sola población, se observa deficiencia de heterocigotos en 7 loci (efecto de Wahlund). Los individuos que se incorporaron a la población en un año desfavorable son más heterocigotos que aquellos que se incorporaron en un año favorable. Se discute la importancia de la estructura genética intrapoblacional como factor evolutivo. FINANCIADO POR PROYECTO B.2820-8812, DTI, Universidad de Chile.

**POSIBLE ROL DEL HEPATOPANCREAS EN LA SINTESIS DE LIPIDOS DURANTE LA VITELOGENESIS DEL CAMARON DE ROCA *Rhynchocinetes typus*.** (Hepatopancreas role in lipid biosynthesis during vitellogenesis in the crayfish *Rhynchocinetes typus*). Donghi, S., Muñoz, G. y Cerisola, H. Lab. Embriología y Lab. Genética Molecular, Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso.

El vitelo almacenado durante el crecimiento del oocito proporciona los nutrientes para el desarrollo del embrión. En diferentes sistemas se conoce la composición proteica del vitelo, no así su composición de lípidos. Las proteínas se sintetizan externamente como una proteína conocida como vitelogenina que es transportada por el líquido corporal hasta el oocito. En el camarón de roca *R. typus* hemos distinguido 4 estados de maduración oocitaria. Estudios de fosforilación de lípidos realizados in vivo mediante la inyección de  $H_3^{32}PO_4$ , muestran la presencia de lípidos fosforilados en vitelo para el camarón de estado 2. Lípidos extraídos y separados mediante cromatografía en capa fina permiten la identificación de fosfatidil-etanolamina, -colina y -serina al comparar sus Rf con aquellos de marcadores comerciales como también mediante tinciones específicas; lípidos fosforilados se demuestran mediante autoradiografía. Estos mismos componentes se identifican en hepatopáncreas como también en hemolinfa. La presencia de lípidos fosforilados en hepatopáncreas, hemolinfa y vitelo se observa para camarones inyectados e incubados durante 12 y 24 hrs. En cambio para camarones incubados por 6 hrs. sólo se observa incorporación de  $^{32}P$  en lípidos de hepatopáncreas y hemolinfa, no así en vitelo. Estos resultados sugieren un posible rol del hepatopáncreas en el proceso de síntesis de lípidos durante la vitelogénesis en el camarón de roca *R. typus*.

**EFECTO DEL ACETALDEHIDO (ALCHO) IN VIVO SOBRE EL TRANSPORTE MITOCONDRIAL DE SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.** (Acetaldehyde in vivo effect on CNS' mitochondrial transport). Egaña, E. & Ramirez, M.T. Universidad de Chile; Facultad de Medicina - Instituto de Medicina Experimental - Laboratorio de Neuroquímica; Santiago 7 Chile. Existe evidencia que el ALCHO, metabolito primario de la oxidación de etanol (EtOH) produce por condensación con aminas biogénicas o por alteración del metabolismo de ellas en SNC biosíntesis de tetrahidroisoquinolinas y tetrahidroscarbolinas, compuestos opioides, implicados en la apetencia por alcohol, alteración de la función adrenérgica, así como el efecto depresor sobre la conducta. Por otra parte estudios realizados por los A.A. (1986 y 1988) han demostrado que ratas sometidas a la ingestión permanente y generacional de etanol, presentan disminución de ciertos índices neurobioquímicos relacionados con la biodisponibilidad de energía en SNC, alteración que reflejaría el efecto del EtOH por sí y la acción indirecta del ALCHO. Por los hechos anteriormente expuestos consideramos de interés conocer la acción exclusiva del ALCHO sobre el transporte mitocondrial en áreas de SNC de ratas a las que se administra ALCHO en forma permanente y generacional. Ratas adultas albino Wistar  $\sigma^7$  y  $\eta^7$ ; Normal y Acetaldehidadas" éstas reciben diariamente 200 mg ALCHO/Kg i.p. durante toda su vida (incluida preñez en  $\eta^7$  por 5-6 generaciones. Se sacrificaron y se obtuvo mitocondria de: corteza cerebral, hipotálamo y cerebelo. Transporte mitocondrial medido en polarógrafo con electrodo Clark y medio reaccional ad hoc en cámara a 25° C. Substrato Sitio I y II de cadena respiratoria. Las ratas acetaldehidadas demostraron disminución de los índices neurobioquímicos comparados con normal (consumo de oxígeno en estado 4 y 3, ADP/O y R.C.R.). Este implicaría acción directa del ALCHO sobre la disponibilidad de energía para funciones fundamentales del SNC, lo que se relacionaría con las manifestaciones neurofisiopatológicas inducidas por la ingestión de EtOH.

**CANALES DE POTASIO EN VESICULAS DE SARCOLEMA DE MUSCULO ESQUELETICO NORMAL Y DESNERVADO.** (Potassium channels of sarcolemmal vesicles from normal and denervated skeletal muscle). Escobar, A.L.M., Schinder, A.F., Cuch, D., Nicola Siri, L.C., y Uchital, O.D. Instituto de Biología Celular, Facultad de Medicina y Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. (Patrocinio: B. Suarez-Isla).

El objetivo del trabajo fue estudiar el efecto que la deservación produce en la expresión de diferentes tipos de canales de  $K^+$  en músculos esqueléticos de mamífero. Los estudios fueron realizados en vesículas de sarcolema obtenidas por estiramiento mecánico de fibras de músculo EDL normal y deservado, utilizando la técnica de patch-clamp.

Los registros fueron obtenidos en la configuración "inside-out", siendo las soluciones simétricas (125 KCl, 2 mM TES pH 7.2 y pCa=5).

En los músculos controles fueron observados dos clases de canales de  $K^+$ : uno activado por  $Ca^{2+}$  ( $g = 260 + 20pS$ ), y otro bloqueable por  $Ba^{2+}$  (2.5 mM) de  $95 \pm 10 pS$ . En los deservados se encontró, entre otros, un canal de  $15 \pm 3 pS$  insensible a 20 mM TEA.

Este canal, no encontrado en los controles, es de particular interés debido a su posible asociación con el receptor de apamina y el fenómeno de "after-hyperpolarization" que aparece luego del proceso deservatorio.

**IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION DEL RECEPTOR DE VASOPRESINA** (Identification and characterization of the vasopressin receptor). Estrada, E.F., Barra, V., Caorsi, C.E., Troncoso, S., González, C.B. Instituto de Fisiología, Universidad Austral de Chile.

Vasopresina (VP) tiene una actividad anti-diurética, vasoconstrictora y gluconeogénica. La anti-diuresis es mediada por receptores  $V_2$  en cambio la vasoconstricción y la gluconeogénesis por receptores  $V_1$ . A fin de entender los eventos celulares en la activación del receptor es necesario la identificación y caracterización molecular de los componentes del sistema receptor-transducción. Para este efecto se unió covalentemente  $^{125}I$ -VP a membranas de hígado de cerdo usando dos agentes bifuncionales (DMS, EGS) y uno además fotoactivable (MSAB). Las proteínas se separaron por electroforesis en geles-SDS y estos fueron expuestos a placas radiográficas. Por otro lado, proteínas de membrana fueron separadas por electroforesis, electrotransferidas a nitrocelulosa y estas incubadas con  $^{125}I$ -VP, lavadas y expuestas a placas radiográficas.

Los experimentos de marcaje de afinidad revelaron que  $^{125}I$ -VP se une a una proteína de 60 Kda en forma saturable. Esta unión es específica dado que puede ser desplazada por VP o por un antagonista de VP pero no por oxitocina ni angiotensina. La incubación de nitrocelulosa conteniendo proteínas de membranas con  $^{125}I$ -VP mostró la unión específica de la hormona a dos proteínas de 56 y 58 Kda. Estos resultados sugieren que el receptor de vasopresina es una proteína de peso molecular de aproximadamente 58 Kda. Financiado por FONDECYT 89-206 y DIUACH 86-26.

**ANTICUERPOS CONTRA LAS GLICOPROTEINAS DEL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA TIPO 2 (VIH-2) EN INDIVIDUOS INFECTADOS CON VIH-1.** (Antibodies against VIH-2 glycoproteins in HIV-1 infected individuals). Espinoza, R., Uribe, P., y Sepulveda, E. Centro de Estudios Científicos de Santiago y Unidad de Virología. Fac. de Medicina, U. de Chile.

El suero de un individuo infectado con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) contiene cantidades variables de anticuerpos contra las proteínas codificadas por los genes *gag*, *pol* y *env* de este virus. Originalmente se creyó que la reactividad cruzada entre los dos tipos de VIH que pueden causar SIDA, VIH-1 y VIH-2, estaba restringida a las proteínas codificadas por los genes *gag* y *pol*, por lo tanto la reacción del suero de un individuo con las glicoproteínas de ambos tipos de VIH se ha considerado indicadora de una doble infección.

Analizando sueros de individuos residentes en Chile que presentan anticuerpos contra VIH-1, hemos encontrado que un 26% de ellos contienen anticuerpos capaces de reaccionar con la proteína externa de VIH-2, gp125, y que un 70% reacciona con el precursor de esta proteína, gp140. Este análisis se realizó por inmunoprecipitación de las proteínas de ambos tipos y subsecuente electroforesis en gel de poliacrilamida para identificar los antígenos precipitados.

Análisis de los sueros por otras técnicas y consideraciones epidemiológicas, indican que los individuos que presentan reacción cruzada no están infectados con ambos tipos de virus. La presencia de anticuerpos contra las glicoproteínas de VIH-2 en algunos individuos, podría explicarse por la infección con una cepa diferente de VIH-1, o por diferencias en la respuesta inmune de estos individuos. La causa de la presencia de estos anticuerpos y su posible relación con el progreso de la infección hasta provocar SIDA, esta actualmente en estudio.

**EFFECTOS DE ALZAS TERMICAS SOBRE LA REGULACION VENTILATORIA. PARTICIPACION DE AFERENCIAS CAROTIDAS.** (Effects of thermal rises on ventilatory regulation. Role of carotid afferents). Fadic, R., Eugenio, J., Larrain, C. y Zapata, P. Lab. Neurobiología, U. Católica de Chile.

Dado el control de los quimiorreceptores arteriales sobre la ventilación pulmonar en reposo y el efecto determinante de la temperatura sobre la frecuencia de descarga de estos quimiorreceptores, interesa caracterizar los cambios de los parámetros ventilatorios inducidos por alzas térmicas y la contribución de los quimiorreceptores carotídeos a dichos efectos.

En gatos anestesiados con pentobarbitona, termo-regulados inicialmente a 37°C, se determinó volumen corriente (VT), frecuencia respiratoria (fR), volumen minuto inspiratorio (VI), frecuencia de suspiros (fS), comando inspiratorio (VI/VI), fracción de tiempo inspiratorio (TI/TTOT) y P<sub>ETCO2</sub>. Se elevó la temperatura rectal a 39°C por calentamiento externo, antes y después de una neurtomía carotídea bilateral (NCB). El análisis estadístico se basó en pruebas de Friedman.

Las alzas térmicas triplicaron fS, aumentaron consistentemente VI y VI/VI, disminuyeron TI/TTOT y P<sub>ETCO2</sub>, produciendo aumentos variables de VI y/o fR en diferentes animales. Los efectos ventilatorios se reversionaron al retornar a 37°C. La depresión ventilatoria transitoria evocada por exposición breve a 100% O<sub>2</sub> fue más pronunciada a 39°C. Los aumentos de fS, VI, VI y VI/VI como las caídas de TI/TTOT en respuesta al alza térmica fueron menores después de la NCB.

Se concluye que el aumento de la ventilación pulmonar evocado por alza térmica es mediado parcialmente por efectos reflejos desencadenados desde los quimiorreceptores carotídeos.

(Financiamiento: FONDECYT 89-499 y Rnd. Gildemeister).

**MARCADORES GENÉTICOS: EXPRESION DE LDH Y MDH EN TEJIDOS DE *Salmo gairdneri*.** (Genetic markers: expression of LDH and MDH in tissues of *S. gairdneri*). **Faúndez V.H.; Alay, F.; González, F.; Cabello, J.** Laboratorio de Genética. Depto. de Biología Molecular. U. de Concepción, Chile. (Financiado por Proyecto DIC: 20.31.22)

En la actualidad los estudios de genética de poblaciones están basados en la detección de isoenzimas como marcadores genéticos, las cuales pueden ser evidenciadas mediante el método electroforético que emplea almidón como soporte, seguido de tinción específica.

Las poblaciones de peces son especialmente apropiadas para este tipo de estudio, dado entre otros aspectos, a su extrema diversidad, gran tamaño poblacional y facilidad de captura.

La piscicultura en Chile ha experimentado, durante la presente década, un notable desarrollo especialmente en la X Región. En la IX Región existen también ejemplos concretos del cultivo de trucha arco iris con fines comerciales y de repoblamiento, por lo tanto, es de prever a corto y mediano plazo el desarrollo de cultivos acuícolas en la VIII Región debido a las potencialidades del recurso hídrico disponible en los sectores precordilleranos.

La piscicultura de trucha arco iris se desarrolló en algunos casos a partir de ovas importadas y en otros, a partir de ovas nacionales provenientes de pisciculturas locales. Esto último sugiere como tarea urgente, el conocimiento y manejo de la reproducción y genética de estos organismos.

El presente trabajo entrega información en torno a la expresión de las isoenzimas LDH y MDH en 9 tejidos y humor vítreo de juveniles de trucha arco iris (*Salmo gairdneri*) provenientes de la piscicultura de Lautaro (IX Región, Chile). Se observa la expresión de estas enzimas a pH 8 para MDH.

**SOBRE LA REPLICACION DE DNA EN POBLACION DE CELULAS BINUCLEADAS** (On the DNA replication in binucleated cells). **Fernández, J.** Laboratorio de Citogenética, Fac. Recursos Naturales, U. del Bío-Bío - Chillán. (Patrocinio: E. Zamorano).

Con el propósito de conocer la acción de un daño sobre la progresión en la síntesis de DNA y el efecto de la inhibición de síntesis de proteínas sobre el mismo proceso en situación de genoma normal y lesionado se procedió a probar el efecto del metilmetanosulfonato (MMS) sobre la cinética de síntesis de DNA en células binucleadas las que fueron inducidas por tratamiento de una hora con solución de cafeína 5 mM, encontrándose que luego de un tratamiento de 1 hora con MMS 2mM no se modifica significativamente la progresión de las células a través de S, lo que sugiere que aún cuando la existencia de un daño puede producir la inactivación de factores de tránsito, la célula podría desencadenar una respuesta que incluye la síntesis de nuevos factores que le permitan progresar a través de esta etapa, por lo tanto la inhibición de la biosíntesis de proteínas debería inducir un frenado en la síntesis de DNA. Al ensayar el efecto de los inhibidores de la biosíntesis proteica: cicloheximida (0,7ug/ml), anisomicina (1ug/ml) y emetina (10ug/ml) sobre la cinética de síntesis de DNA se observó que la presencia del inhibidor de síntesis proteica no produce una modificación sustancial en la síntesis de DNA. Sin embargo, cuando se preincuba con MMS y luego se trata con CHM, emetina o anisomicina se produce una severa caída en la síntesis de DNA. Los resultados obtenidos apoyan la idea que la presencia de daño puede desencadenar una respuesta que incluya la biosíntesis proteica de algún factor que es requerido para la progresión del desarrollo de la etapa de replicación de la información genética.

Financiado parcialmente proyecto 89-3114 - U. del Bío-Bío.

**RECONSTRUCCION DEL CITOESQUELETO MICROTUBULAR ECTOPLASMICO DEL HUEVO DE SANGUIJUELA MEDIANTE MICROSCOPIA OPTICA DE BARRIDO: CONFOCAL** (Reconstruction of the ectoplasmic microtubule cytoskeleton of the leech egg by scanning light microscopy). **Fernández, J., Torrence, S., Téllez, V. y Olea, N.** Fac. Ciencias, U. de Chile y Dept. Mol. Cell Biol. U. California, Berkeley.

Domios de citoplasma rico en organelos (teloplasma) y destinados a la formación de ecto y mesodermo se establecen en los polos del huevo indiviso de sanguijuela durante la primera interfase. Este proceso se acompaña de la aparición de anillos polares y bandas meridionales de contracción, cuyo desplazamiento culmina con la acumulación de numerosos organelos en los polos del huevo. Microtúbulos (mts) y microfilamentos están presentes en el ectoplasma y drogas como la colchicina y citochalasin B pueden bloquear o perturbar, respectivamente, la formación de teloplasma. Para comprender el papel de los mts en este proceso se estudió su organización en huevos interfásicos del glossifoniido *Theromyzon rude*. Montajes completos de huevos teñidos para inmunofluorescencia de tubulina fueron observados con microscopía de fluorescencia convencional y confocal. Se construyeron proyecciones del citoesqueleto microtubular e imágenes estereoscópicas, a partir de series focales espaciadas cada 0,9 µm.

Existen dos poblaciones de mts interfásicos: los asociados a los surcos meridionales (mts A) y los presentes entre éstos (mts B). Los primeros forman prominentes columnas citoesqueléticas, presumiblemente como resultado de la aglutinación de mts provocada por contracción de la red de actina ectoplásmica. Los mts B son también meridionales, pero forman discretos fascículos de distribución más superficial. El transporte de organelos se caracteriza por ocurrir mayoritariamente a lo largo de los mts A y acompañarse de acortamiento de mts A y B. Así, durante la formación de teloplasma los organelos parecen trasladarse a lo largo de un sistema especializado de mts que presenta ciertas analogías con los mts cinetocóricos. (Financiado por FONDECYT, Proyecto 89-1128).

**ALTERACION DEL MICROAMBIENTE HEMATOPOIETICO POR CELULAS LEUCEMICAS** (Altered hematopoietic microenvironment by leukemic cells). **Fernández, M. y Martínez, J.** Unidad de Biología Celular. INTA. Universidad de Chile.

En la leucemogénesis, la transformación de precursores inmaduros genera un bloqueo en el patrón normal de diferenciación y por consiguiente distintos tipos de interacción entre el clon leucémico y el microambiente (MA). Con el propósito de comprender los mecanismos por los cuales las células leucémicas provocan alteraciones en el MA, se evaluó el efecto de inóculos de células leucémicas de la línea WEHI-3B, sobre estroma de cultivos continuos de médula ósea (CCMO) de ratón Balb-c.

Estudios con células WEHI marcadas con Cr-51, indicaron que el 60% de las células permanecen adheridas al estroma. Luego de 5 días de cocultivos se observó la aparición de espacios libres de células en estroma. Este efecto no se observó con células progenitoras normales. Dado que colágeno es el componente más abundante de la matrix extracelular (ME) en CCMO, investigamos la presencia de una enzima con actividad colagenásica en las células leucémicas.

Los resultados indican que las células WEHI-3B presentan una actividad colagenásica que es activada por tratamiento con tripsina. Esta actividad no es liberada al medio, es específica para colágenos intersticiales y degrada tanto colágenos aislados como aquellos que forman parte de una ME marcada con 3H-prolina. Es posible por lo tanto que la adhesión de células leucémicas a componentes de matrix o a células de estroma implique un eventual estímulo para la liberación de enzimas hidrolíticas.

Financiamiento: Proyecto DTI # 1720.

**DIFERENCIACION Y DIVERSIFICACION DE NEUROBLASTOS NEOCORTICALES. INTERACCIONES NUTRICIO-MACROAMBIENTALES** (Differentiation and diversification of neocortical neuroblasts. Nutritional-macroevironmental interactions). Fernández, V. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El proceso de maduración y citodiversificación de la placa neocortical es particularmente dinámico durante las primeras fases post-natales y se encuentra caracterizado por una alta tasa de rebrotes y retracciones dendríticas.

Las influencias de los niveles de nutrición y enriquecimiento ambiental sobre la estructura cortical fueron evaluadas en 420 pirámides. Los cerebros procedían de 37 ratas albinas Sprague-Dawley. La evaluación incluyó: (1) Técnicas de Golgi, (2) trazados bajo cámara lúcida y (3) cuantificación por medio de sistemas computarizados.

El modelo experimental empleado permitió de mostrar que la aplicación de condiciones nutricio-ambientales favorables incrementa significativamente la complejidad geométrica y expansión territorial de los campos dendríticos.

La importante relación establecida entre la estructura cortical en desarrollo y los niveles de enriquecimiento nutricio-ambiental es consistente con efectos similares obtenidos por estimulación compulsiva durante el período pre-destete. De este modo queda en evidencia que el "Ambiente" constituye en animales jóvenes un factor extraordinariamente importante en el impulso del crecimiento cortical.

Financiado por Proyectos: Fondecyt 0185-88 y 0580-87. D.T.I 2675-8825 Universidad de Chile.

**REORGANIZACION NUCLEOLAR EN CELULAS MERISTEMATICAS DE *Chl. comosum*** (Nucleolar reorganization in meristematic cells of *Chl.c.*)

Ferrada, D. Dpto Agro-Indus. Fac.de Rec. Nat. U. del Bio-Bio. (Patrocinio: J.Sans).

El nucleolo se desorganiza durante la profase y se reorganiza al final de la telofase, a través del proceso de reorganización nucleolar [rn] ó nucleologénesis.

En el presente trabajo se estudia la cinética y requerimientos metabólicos de la rn en una población de células meristemáticas sincrónicas de raíces de *Chl. comosum*. Las raíces se obtuvieron mediante un cultivo hidropónico de plántulas realizado en condiciones controladas de  $t^{\circ}$ , oxigenación e iluminación. Células naturalmente sincrónicas se seleccionaron mediante un tratamiento con cafeína (esta droga inhibe en vegetales la citocinesis, de tal manera que todas las células que están pasando por telofase durante el tratamiento quedan como células binucleadas). La rn se estudió después de impregnación argéntica para nucleolo.

Los resultados muestran que la rn en este sistema es similar, pero, ligeramente más lento a lo descrito en *Acopa L.* Este proceso es totalmente bloqueado mediante un inhibidor de la síntesis de RNA (bromuro de etidio), en cambio, no es bloqueada con un inhibidor de la síntesis de proteínas (cicloheximida), por el contrario, este inhibidor acelera este proceso.

Estos resultados sugieren que la rn en *Chl. comosum* es un proceso que sería dependiente de la síntesis de RNA, sin embargo, no requeriría de síntesis simultánea de proteínas.

Proyectos 89-3114 U. Bio-Bio y FONDECYT 89/812.

**ACTIVIDADES DE ENZIMAS RELACIONADAS CON EL METABOLISMO DEL GLUTATON EN EL HIPERTIROIDISMO EXPERIMENTAL.** (Glutathione-related-enzymatic-activities in the experimental hyperthyroidism). Fernández, V. Unidad de Bioquímica, División de Ciencias Médicas Occidente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los contenidos de Glutatión reducido (GSH) y oxidado (GSSG) hepáticos, están drásticamente disminuidos en animales hipertiroideos, alcanzándose depleciones de 43,5% para GSH y de 60% para GSSG a los 3 días de tratamiento con hormonas tiroideas. Por otro lado, la expresión biliar de GSH y de GSSG están también disminuidas en esta situación. Considerando que el GSH constituye uno de los más importantes mecanismos de defensa celular antioxidante, en este trabajo se evalúan las actividades de algunos sistemas enzimáticos hepáticos que contribuyen a generar lo (enzimas de la síntesis de GSH y Glutatión reductasa (GSSG-R)) y de otros que catalizan procesos que lo consumen (Glutatión-transferasas (GSH-Tr) y Glutatión peroxidasa (GSH-Px)). Los estudios se efectuaron en sobrenadantes hepáticos post-microsomales de ratas tratadas con 0,1 mg de tri-iodotironina/kg durante 3 días.

Se observa que el hipertiroidismo no produce alteración en las actividades de GSSG-R y GSH-Px, obteniéndose incrementos sobre 80% en la síntesis de Glutatión y disminución en las actividades arilo (45,1%) y epoxi (12,2%) de GSH-Tr, lo que implicaría un mayor aporte y una menor utilización del tripeptido, respectivamente.

Estos resultados señalan el posible rol que otros mecanismos podrían tener en la depleción hepática de GSH, como lo es el flujo sinusoidal de GSE, que normalmente da cuenta de un 80% del recambio hepático del tripeptido.

Financiado por DFI B-1860 y FONDECYT 987/1989.

**ACCION DEL PENTAFLOROFENATO DE SODIO SOBRE EL TRANSPORTE IONICO EN EPITELIO DE PIEL DE SAPO AISLADA.**

(Action of sodium pentachlorophenate on the ionic transport of the epithelium of isolated toadskin).

R. Ferraris, G. Montoya, y F. González.  
Dpto. Ciencias Fisiológicas. Universidad de Concepción.

El pentaclorofenato de sodio PCF produce notables efectos sobre el metabolismo celular debido a su acción desacoplante de la fosforilación oxidativa y a su poder de alterar el comportamiento biofísico y fisiológico de membranas.

En este trabajo se da cuenta de un estudio sobre la acción de PCF sobre la diferencia de potencial (DP) y corriente de cortocircuito (CCC) en piel aislada de sapo parámetros que dependen del flujo de iones a través de la piel. Esta se montó en cámara de lucita tipo Ussing con Ringer normal en ambos lados de ella a pH 7.5, temperatura ambiente y abundante oxigenación. La DP y CCC se registraron en un registrador Cole-Parmer de acuerdo a la técnica clásica. Se utilizó amilorida  $10^{-6}$  M para realizar el test de Isaacson y se registró el consumo de oxígeno en un polarógrafo ISY.

Se encuentra que PCF en el lado mucosal de  $9 \times 10^{-6}$  a  $1 \times 10^{-4}$  produce efecto inhibitor dosis dependiente de DP y CCC. El test de Isaacson acusa una disminución muy marcada del potencial de la bomba de  $Na^+$  y  $K^+$  ( $E_{Na}$ ) y disminución significativa de la conductancia activa ( $G_a$ ). El consumo de oxígeno ( $QO_2$ ) de la piel aumenta en forma significativa.

Por los resultados obtenidos se piensa que PCF produciría desacoplamiento de la fosforilación oxidativa lo que explicaría el aumento de  $QO_2$  y la gran disminución de  $E_{Na}$  que refleja la insuficiencia de ATP.

Se concluye que PCF bloquea el transporte de iones principalmente  $Na^+$  por inhibición de la actividad de la bomba de  $Na^+$  y  $K^+$  debido a insuficiente producción de ATP y a bloqueo de la fosforilación oxidativa.

Proyecto D.I. 20.33.41, Universidad de Concepción  
y Proyecto FONDECYT 89/0625.

**PROTEINAS DE LA MEMBRANA EXTERNA DE *Thiobacillus ferrooxidans*: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION.** (Outer membrane proteins from *Thiobacillus ferrooxidans*: Isolation and characterization). Ferreira, A.C., Silva, M.M. y Rodríguez, M. Unidad de Microbiología y Genética Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Modificando los métodos tradicionales de aislamiento de proteínas de membrana de bacilos Gram negativos, hemos obtenido fracciones de Membrana Externa de *Thiobacillus ferrooxidans* cepa R2. El análisis electroforético de esta fracción estableció que está constituida por seis polipéptidos, cuyos pesos moleculares fluctúan entre 100 kDa y 11 kDa.

Por tratamiento proteolítico y filtración en gel se purificaron dos de las proteínas de la Membrana Externa, las que se denominaron P40 y P27, de acuerdo a su migración electroforética. Ambas proteínas existen en forma oligomérica en la membrana y migran de la manera descrita sólo cuando son solubilizadas a 100°C.

A través de geles de poliacrilamida e inmuno western blot se ha establecido que la forma oligomérica de la proteína P40 es un homo-oligómero de 90 kDa. Aunque no se ha aislado el oligómero que da origen a la proteína P27, estudios por inmuno western blot sugieren que se trataría de una proteína de ~100 kDa.

Por su ubicación en la Membrana Externa y las características físico-químicas de las proteínas aisladas, semejantes a las de porinas de otras bacterias Gram negativas, hemos pensado que las proteínas en estudio podrían formar poros, lo que se estudiará inicialmente usando liposomas.

Financiado por Proyecto PNUD-UNIDO CHI-88-003.

**EFFECTO DEL HIDROXIANISOL BUTILADO SOBRE EL TRANSPORTE DE ELECTRONES DE MITOCONDRIAS DE HIGADO DE RATA.** (Effect of butylated hydroxyanisole on electron transport in rat liver mitochondria). Ferreira, J. Departamento de Bioquímica y Química, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se estudió el efecto del hidroxianisol butilado (BHA) sobre el consumo de oxígeno, actividad ATPásica y el estado redox de algunos transportadores de electrones de mitocondrias de hígado de rata. Se observó una estimulación de la respiración en estado 4 muy débil, pero una inhibición muy fuerte de la respiración estimulada por ATP o por CCCP, especialmente cuando los electrones provienen de sustratos que reducen al NAD<sup>+</sup> o al FAD. La actividad ATPásica y la liberación vectorial de H<sup>+</sup> fueron sólo muy débilmente afectadas por BHA. Estos resultados sugieren que BHA inhibe principalmente el flujo de electrones.

BHA no inhibió significativamente el transporte de electrones a través de la citocromo oxidasa. Sin embargo, la actividad NADH-duroquinona reductasa y el flujo de electrones a través del complejo ubiquinona-citocromo c fueron fuertemente inhibidos. El bloqueo del flujo de electrones por BHA puede ser liberado por TMPD y por DCIP; además, la presencia de BHA cambió los estados redox de los citocromos b y c<sub>1</sub> a un nivel más oxidado. Estas observaciones sugieren que BHA inhibe el transporte de electrones entre el NADH-ubiquinona y entre ubiquinona-citocromo b<sub>L</sub>.

El análisis de los resultados de acuerdo a la ecuación de Hill, sugieren que habrían 2 sitios de inhibición al lado del sustrato de la ubiquinona y otros 2 sitios al lado del oxígeno de la ubiquinona.

En consecuencia, la síntesis de ATP mitocondrial estaría interrumpida y este hecho estaría relacionado con la toxicidad del BHA.

Financiado por UNIVERSIDAD DE CHILE, proyecto N°B-2888.

**ESTIMULACION DE LA CORRIENTE DE Na<sup>+</sup> POR ACETILCOLINA EN EPITELIO DE ALTA RESISTENCIA** (Stimulation of Na<sup>+</sup> current by acetylcholine in high resistance epithellium). Figueroa, P. Depto. de Agroindustria y Cs. Ambientales, Universidad del Bío-Bío. (Petrucchio; J. Morris)

Previamente se ha informado que acetilcolina genera variaciones de los parámetros bioeléctricos en piel de sapo por activación de receptores muscarínicos. El efecto de esta droga se ha relacionado con la síntesis de prostaglandinas dependiente e independiente de Ca<sup>2+</sup> serosal y el aumento de R<sub>Na</sub> y R<sub>Ca</sub>. El presente trabajo describe los probables eventos intracelulares para la acción de esta droga en epitelio abdominal aislado de sapo *Pleurodeles thal*.

Los animales fueron capturados en los alrededores de la ciudad de Chillán, VIII Región, Chile, y un segmento de piel fue renovada y montado en cámara de Ussing modificada, la diferencia de potencial (RP) y la corriente de corto-circuito (CCC) fueron registradas constantemente y el test de amilorida de Isacson fue ensayado.

Acetilcolina (10<sup>-6</sup>M) genera un aumento de la RP, CCC y conductancia apical del Na<sup>+</sup> en la piel. Esta respuesta no es modificada al preincubar la preparación con propranolol, d-tubocurarina o con solución Ringer libre de Ca<sup>2+</sup> más EGTA en el medio serosal, al contrario de lo obtenido con atropina, indometacina o cuando amilorida (100<sup>-6</sup>M) fue administrado al medio de baño mucosal. Piel de animales previamente reserpinizados generan una respuesta similar a la obtenida con acetilcolina o cuando muscarina, R<sub>Na</sub> y R<sub>Ca</sub> exógenos fueron administrados al medio serosal. Por otro lado, el flujo mucosa-serosa de Na<sup>+</sup> también se ve aumentado (13%).

Se propone una acción directa de acetilcolina sobre receptores muscarínicos en el epitelio, aumentando la síntesis de prostaglandinas y la actividad tanto de guanilato ciclasa como de adenilato ciclasa. La acumulación de R<sub>Na</sub> y R<sub>Ca</sub> generarían un aumento transiente en la permeabilidad al sodio.

Este trabajo fue realizado en colaboración con el prof. L. Sobrevia.

**REGULACION HIPOTALAMICA DE LA RESPUESTA INMUNE: EFECTO EN EL TIMO Y CELULAS LINFÓIDES PERIFERICAS.** (Hypothalamic regulation of the immune response: Effect on thymus and peripheral lymphocytes). Folch, H., Altamirano, J., Alarcón, C. and F. Velásquez. Instituto de Medicina Experimental, Universidad Austral de Chile.

En el pasado hemos reportado la capacidad del hipotálamo de ratones jóvenes para inducir la reparación de la hormona tímica en animales viejos. Acá presentamos evidencias morfológicas que prueban la disminución de las células Timulina positivas en el timo después de la inyección con extracto hipotalámico (HE) joven como así mismo la capacidad de aumentar la síntesis de DNA medida como incorporación de Timidina H3 en células esplénicas y de ganglio linfático mantenidas en cultivo por 72 horas. La detección de las células timulina positivas se efectuó por inmunohistoquímica usando el anticuerpo monoclonal de rata 1F11 obtenido en el laboratorio ségundo por anti IgG de rata y complejo peroxidasa-antiperoxidasa de rata.

Los resultados acá expuestos permiten concluir: a) que el timo de animales viejos tiene una alta densidad de células timulina positivas; b) que la inyección de EH induce la disminución drástica de ellas; c) que el EH de animales jóvenes normales induce un aumento de la respuesta blastogénica en linfocitos periféricos mientras el extracto de animales viejos es ineficiente.

Financiado por Proyectos DID-UACH S-89-21, FONDECYT 0074/89, TWAS-GR 29-CHL-7 y GTZ 78.2503.7-01.300/469.

**INTERACCIONES ENTRE EL EPITELIO EPIDIDIMARIO Y LOS ESPERMATOZOIDES EN LA RATA.** (Interactions between epididymal epithelium and spermatozoa in the rat). Fornés, M., de Rosas, J. y Burgos, M.H. IHEM, FCM, UNC Argentina.

La producción de vesículas membranosas en diferentes sectores del tracto reproductor masculino han sido descritas con disímiles papeles (Varha-Peritula, 1988); pero en la rata no han sido descritas a ningún nivel.

Con el objeto de verificar la presencia de las vesículas membranosas se fijaron los epidídimos de ratas macho adultas a través de la perfusión intravascular del fijador descrito por Mollanhuar y col. (1978). Las muestras de cabeza y cola de epidídimo se procesaron por 3 vías: 1) se deshidrataron mediante grados crecientes de alcohol-acetona y se incluyeron en Epon 812, siendo cortados en secciones de 1  $\mu$  y dorado-plateadas para ser observadas en microscopía de luz y transmisión. 2) igualmente zonas se secaron a través del punto crítico de secado y fueron doradas en un Sputter, siendo observadas en microscopía electrónica de barrido. 3) del mismo sector se embudieron muestras en glicerol y se sometieron a congelamiento y fractura en un aparato Balzer y las réplicas de superficie se observaron en microscopía de transmisión.

Estas vesículas son producidas por un ampolamiento de la membrana plasmática de las esterocilias y un posterior estrangulamiento del tallo y liberación. En la luz algunas se unen a la pieza principal de las gametas, no siendo visibles en la zona central del lumen.

Postulamos que serían una forma de secreción del epitelio epididimario como contribución al ambiente madurativo que rodea a la gametas.

**SUBDIVISION FUNCIONAL DEL COMPLEJO PULVINAR - LATERAL POSTERIOR.** (Functional subdivision of the Pulvinar - Lateral Posterior complex). Frenkel, C., Sáez, C. y Palestini, M. Departamento de Preclínicas, Facultad de Medicina, División Oriente; Universidad de Chile.

Aún en nuestros días poco conocemos en relación a las funciones específicas del complejo Pulvinar-Lateral Posterior (P-LP), a pesar del interés que suscita por ser ésta una estructura filogenéticamente nueva y de gran desarrollo en el humano.

La estimulación eléctrica de este complejo en gatos con implantación crónica de electrodos, provoca rotación contralateral de la cabeza acompañada de movimientos oculares en igual dirección con o sin dilatación pupilar y, a veces, movimiento de orejas y olfateo. Con intensidades crecientes suele verse rotación de todo el cuerpo.

A este conjunto de respuestas a veces complejas, se les ha denominado de "orientación y búsqueda".

Con nuestro estudio intentamos hacer una subdivisión funcional del Complejo P-LP que hasta ahora se considera como una unidad. Para ello implantamos en gatos machos de aproximadamente 2,5 a 3,0 kg., electrodos crónicamente por medios estereotáxicos, esto basándonos en la subdivisión histoquímica de la Dra. Graybiel.

Luego de un período de recuperación post-operatorio y de adaptación a la jaula donde serían estimulados, se realizaron estimulaciones de intensidad creciente con frecuencias de 100 y 60 Hz, duración de 0.2 mseg, durante 5 seg.

Con ésto hemos logrado determinar áreas específicas para diferentes respuestas simples y actos complejos fuera de los ya mencionados. A modo de ejemplo podemos señalar búsqueda, jugueteo, evitamiento, clonías y en ocasiones, crisis convulsivas.

**SINTESIS Y SECRECION DE PROTEINAS OVIDUCTALES EN LA RATA.** (Synthesis and secretion of oviductal proteins in the rat). Fuentealba, B. Unidad de Reproducción y Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile.

La participación activa del oviducto en eventos reproductivos tales como capacitación, fecundación y desarrollo embrionario temprano ha sido sugerida. En este estudio examinamos la secreción de proteínas sintetizadas *in vitro* por el oviducto en diferentes condiciones fisiológicas y experimentales por electroforesis uni y/o bidimensional y radioautografía.

Durante el ciclo estral la incorporación de  $^{35}\text{S}$ -Met a proteínas TCA precipitables, aumentó progresivamente, hasta un 63%, desde el día del estro hasta el día del proestro; durante los 4 primeros días de la preñez, la incorporación aumentó 6 veces entre el día 1 y día 2 (100%), disminuyó en un 25% al día 3 y en un 90% al día 4.  $\text{E}_2$  exógeno, en el día 1 de la preñez, aumentó la incorporación al doble y la administración de P inhibió el aumento inducido por  $\text{E}_2$ . Análisis electroforético reveló diferencias en el número y cantidad de proteínas secretadas durante el ciclo estral y los 4 días de preñez.  $\text{E}_2$  indujo aumento en la secreción de algunas proteínas y disminución de otras. P suprimió aumentos inducidos por  $\text{E}_2$ . Las células epiteliales en cultivo tienen una mayor secreción epical que basal, secreción exclusiva apical de 2 proteínas (98 y 18 KD) y basal de una (85 KD).

En resumen se demuestra: 1) que el epitelio oviductal secreta proteínas, algunas de las cuales están bajo el control de los esteroides ováricos, 2) que la actividad secretora cambia durante el período preimplantacional y 3) que, en las condiciones del cultivo, existe secreción preferencial de algunas proteínas hacia el tejido subepitelial.

Financiado parcialmente por WHO y Fundación Rockefeller.

**TEMPORALIDAD EN LA EXPRESION DE MONOMEROS Y TETRAMEROS DE ACETILCOLINESTERASA (AChE).** (Temporal expression of monomeric and tetrameric AChE forms). Fuentes, M.E. Unidad Neurobiología Molecular, P. Universidad Católica de Chile.

En los distintos tipos celulares coexisten diversas formas de AChE, no conociéndose aún, en forma precisa, la relación existente entre estas formas durante su biosíntesis. La complejidad de los sistemas estudiados ha hecho difícil el análisis de este problema.

En este trabajo se estudió la relación precursor producto de las distintas formas de AChE en cultivos primarios de neuronas. En este sistema sólo se expresan monómeros y tetrámeros de la enzima, los cuales han sido caracterizados previamente. Se usó una mezcla de inhibidores los cuales permiten marcar específicamente las formas monoméricas de la enzima y seguir en el tiempo el desplazamiento de esta marca hacia formas más complejas. Los resultados obtenidos muestran que durante los primeros 60 min de síntesis sólo se expresan monómeros. Esta actividad representa el 16% de la actividad total y el 33% de la actividad asociada a los monómeros. Las formas tetraméricas no aparecen antes de las 2 h de síntesis aproximadamente, sugiriendo que estas formas serían originadas a partir de monómeros previamente sintetizados.

Este estudio permite avanzar en la comprensión de la biosíntesis de la forma tetramérica de AChE, que corresponde a la principal forma de la enzima presente en el sistema nervioso central de los mamíferos.

<sup>1</sup>Becaria de la Fundación Andes. Financiado por DIUC 77/86 al Dr. N.C. Inestrosa.

**ABSORCION DE AMINOACIDOS-H<sup>3</sup> EN MUCOSA GASTRICA DE MAMIFEROS.** (<sup>3</sup>H)-Labelled amino acids absorption in mammals gastric mucosa). Fuentes, O.; Depolo, P.; Moreno, C.; Ramos, H. y Acevedo, R. Depto. Agroind. y Cs. Ambientales. Fac. Rec. Nat. Universidad del Bío-Bío, Campus Chillán.

Recientemente (Bravo y Col. 1988) señalamos que la membrana basolateral de la pared gástrica canina capta significativas cantidades de aminoácidos trititados que le son ofrecidos desde la sangre, los cuales aparecen tarde y restringidamente en el lumen. Posteriormente (Bravo y Col. 1989) indicamos que ese mismo órgano es capaz de captar similares sustratos desde el lumen y absorber gran parte de estos hacia la sangre. En este informe en tregamos evidencia que el estómago de conejo y rata puesto en cámara de Rhem capta, también desde el lumen, y absorbe hacia la sangre los siguientes aminoácidos: serina-H<sup>3</sup>, triptofano-H<sup>3</sup>, alanina-H<sup>3</sup> y fenilalanina-H<sup>3</sup>. La captación de éstos se cuantifica midiendo la fracción del aminoácido marcado que desaparece desde el contenido luminal cada 2,5 minutos en relación al total adicionado a tiempo cero. Paralelamente se mide la actividad en muestras de sangre durante el experimento y muestra cosa gástrica al final de éste.

La captación de alanina-H<sup>3</sup> demostró ser sodio dependiente e inhibida cuando se adiciona su análogo sin marca al contenido luminal (Tyrode+aa-H<sup>3</sup>).

Los resultados obtenidos nos sugieren que las células de la mucosa gástrica de los mamíferos en materia poseen mecanismos capaces de captar, retener y absorber aminoácidos libres presentes en el lumen.

Financiado parcialmente por Proyecto 182214 Dirección de Investigación Universidad del Bío-Bío.

**AUMENTO DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE LAS MEMBRANAS CELULARES A LA INDUCCION DE ESTRES OXIDATIVO DERIVADO DE LA INGESTION DE ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS.** (Increased susceptibility of cellular membranes to the induction of oxidative stress after ingestion of polyunsaturated fatty acids). Garrido A., Campos R., Guerra R., Valenzuela A. Unidad Bioquímica Farmacológica. INTA. U. de Chile.

El aumento de la insaturación de los fosfolípidos que componen las membranas celulares puede incrementar la susceptibilidad de estas a la inducción de un estrés oxidativo expresado principalmente como lipoperoxidación. El aumento de la insaturación se produce en modelos animales cuando estos son sometidos a la ingestión de aceites marinos ricos en ácidos grasos altamente insaturados como son el EPA (C20:5, n-3) y el DHA (C22:6, n-3) y cuyos efectos biológicos se han vinculado al tratamiento y prevención de las enfermedades cardiovasculares. Al administrar a ratas adultas jóvenes dosis altas de aceite de sardina española, previamente desodorizado por destilación a alto vacío, se produce un aumento del contenido de EPA y DHA en las membranas de los eritrocitos y en los microsomas hepáticos. Al ser sometidas estas membranas a la inducción de lipoperoxidación mediante Fe+2-ascorbato o NADPH-Fe+3-AMP, se observa una mayor susceptibilidad de estas medida por el aumento en la formación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). Datos preliminares indican que la suplementación del aceite con DL-tocoferol protege las membranas a la inducción del estrés oxidativo derivado del efecto de los prooxidantes utilizados.

Financiado por FONDECYT 952/89 y por. FOND (CHI/017/88).

**EVALUACION DE LA GENOTOXICIDAD DE "AGUARDIENTES" DE ELABORACION CASERA DE LA VIII REGION, CHILE.** (Genotoxic evaluation of home-made "Aguardientes" of VIII Región, Chile). García, M., Mayer S.F., Cea C.G. Departamento de Biología Molecular Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción, Chile. Proyectos DIC 20.39.01 - 20.31.18.

Se evaluó el potencial inductor de daño genético de los destilados artesanales denominados comúnmente "aguardientes" con el objeto de entregar antecedentes etiológicos para la asociación observada entre el consumo excesivo de estas bebidas alcohólicas y carcinogénesis y teratogénesis a nivel humano. Se ensayaron aguardientes obtenidos por métodos diferentes, *in vivo* en médula ósea de ratones Balb/c. Se midió el potencial inductor de micronúcleos el cual fue diferente para los distintos tipos de aguardientes. El aguardiente que indujo la mayor frecuencia de micronúcleos fue evaluado *in vitro* en tres dosis fisiológicas humanas y en presencia y ausencia de un sistema de activación metabólica (AM) para conocer su potencial inductor de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) y de aberraciones cromosómicas (AC). Sin AM, las dosis ensayadas, tanto como el etanol p.a. (1.5 g/l) no producen AC. Con y sin sistema de AM el aguardiente muestra una correlación positiva entre las dosis ensayadas y la frecuencia de ICH. La mayor dosis de aguardiente, con AM indujo AC. Etanol p.a. a igual dosis falla en inducir AC, pero sí induce ICH. Estos resultados concuerdan con la hipótesis de que los catabolitos del alcohol presentan actividad mutagénica. Se concluye que los aguardientes presentan: 1) actividad genotóxica *in vivo* e *in vitro*, 2) actividad genotóxica directa e indirecta *in vitro*, 3) en igual concentración etanólica una actividad genotóxica notablemente superior a la del etanol puro, 4) una actividad genotóxica fundamentalmente atribuible a sus congéneres o a una interacción *per se* congéneres-etanol o a sus eventuales productos metabólicos.

**ANALISIS HISTOLOGICO DE LA INFECCION DE Kingiella chilena (BIVALVIA, CYAMIIDAE) POR LARVAS DE TREMATODO.** (Histological analysis of the infection of trematode larvae in Kingiella chilena (Bivalvia, Cyamidae). Garrido, O., Franjola, R. y Gallardo, C. Instituto de Embriología, Facultad de Ciencias, Instituto de Parasitología, Facultad de Medicina, Instituto de Zoología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Kingiella chilena, es un bivalvo estuarial de muy pequeño tamaño, que se localiza en los fondos intermareales arenosos-fangosos de la marisma del río Queule (Provincia de Cautín).

Esta almeja se encuentra infectada por estados larvales de trematodos digenéticos (redias y cercarias) pertenecientes a la familia Gymnophallidae.

Con el fin de determinar la localización exacta de los estadios larvales en este lamelibranquio, se procedió a fijarlo en formol salino, para posteriormente efectuar cortes histológicos, los que fueron teñidos con hematoxilina-eosina.

Al observar los cortes histológicos de individuos parasitados, se pudo apreciar que el parásito afecta a la glándula digestiva hepato-páncrea y no al tejido gonádico, como ocurre en otras especies de moluscos infectados en cuyos casos se produce la castración gonadal.

En este caso se detecta daño a nivel histológico, sólo en el hepato-páncreas, situación que podría contribuir a la mortalidad que afecta a estos individuos de *K. chilena* en la población estudiada.

Financiado por Proyecto FONDECYT 089-189 y Proyecto DID-UACH S-88-14.

ALGUNOS ACIDOS NUCLEICOS SON EFICIENTES INHIBIDORES DE LA CASEINA QUINASA II. (Some nucleic acids are efficient inhibitors of casein kinase II.) Gatica, M., Moraga, A. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La caseína quinasa II (CQ-II) es una proteína quinasa ubicada en células eucarióticas. Esta enzima parece participar en algunas etapas de la replicación y transcripción de los ácidos nucleicos y su actividad se incrementa al tratar células con agentes mitogénicos. Sin embargo se conoce poco sobre los mecanismos bioquímicos de su regulación. Usando la CQ-II purificada a partir de núcleos de oocitos de Xenopus laevis, se ha estudiado el posible efecto de varios ácidos nucleicos. DNA de monohebra del fago M 13 es altamente inhibitorio (150 de 50 ug/ml) mientras que la forma de doble hebra del mismo fago es mucho menos eficiente y el DNA de doble hebra del plásmido pGEM 3 no inhibe la reacción. Preparaciones de tRNA específico para fenilalanina no tienen efecto. Usando polinucleótidos sintéticos también se observó especificidad ya que el poli U es un potente inhibidor (150 10 ug/ml), mientras poli A, poli C y copoli AG no tienen actividad. La inhibición causada por poli U se elimina por tratamiento con RNasa y el efecto del DNA monohebra de M 13 es destruido por la nucleasa S<sub>1</sub>. La inhibición causada por poli U es competitiva y presenta una K<sub>i</sub> aparente de 80 nM. (Apoyado por FONDECYT, The Council for Tobacco Research y la Universidad de Chile.)

FORMACION DE ISO-ASPARTICO EN EGF. (Formation of Iso-aspartyl EGF). George-Nascimento, C., Borissenko, M. y Medina-Selby, M. A. Chiron Corp., Emeryville, California, EE.UU.

El factor de crecimiento epidermal (EGF) es un mitógeno que afecta a células de origen epidérmico. EGF pierde su actividad mitótica lentamente si se encuentra liofilizado, sin embargo en solución a un pH 3.0 la actividad biológica decae más rápidamente. Nosotros hemos observado que esta caída en la actividad mitótica se debe a la formación no enzimática de un isómero de EGF. La caracterización de este isómero, después de su purificación en HPLC, indicó que se generaba iso-aspartico en la posición 11. Las evidencias de la formación de un iso-aspartico en posición 11 son las siguientes: 1) la secuencia de amino ácidos se detiene después del residuo 10, indicando que la degradación química de Edman para el residuo 11 no es reconocida, 2) el mapa quimotriptico obtenido en fase reversa de HPLC mostró ser diferente al de EGF en aquellos péptidos conteniendo el residuo 11, 3) el iso-aspartil derivado de EGF es sustrato de L-isoaspartil/D-aspartil metiltransferasa, enzima específica para iso-derivados de aspártico, y 4) una mutante de EGF en la cual el residuo de aspártico en posición 11 se cambió por glutámico no forma el isómero de EGF estudiado. La actividad biológica de esta mutante es idéntica al EGF nativo. Se demuestra con este estudio que la actividad mitogénica de EGF se puede estabilizar cambiando un residuo aminoácido en su molécula.

ONTOGENESIS OF THE MINERAL PHASE IN THE DEVELOPING BONY FIN RAYS OF THE TROUT, Oncorhynchus mykiss. GERAUDIE, J. and W. J. LANDIS\* Laboratoire d'Anatomie Comparée, Université Paris VII, and \*Laboratory for Skeletal Disorders, Harvard Medical School.

The organization and development of the mineral phase has been studied during early ontogenesis of the bony fin rays of the trout, Oncorhynchus mykiss (the former Salmo gairdneri). Mineralization proceeds in a proximodistal direction. An electron-dense ground substance, now being analyzed, is first deposited at the level of the collagenous lamella of the dermo-epidermal interface of the skin fins. Then, isolated needle - or plate-like particles of high electron density are found, associated apparently exclusively with the collagen fibrils, the collagen type of which is under study. Later, collagen fibrils and ground substance become increasingly obscured by mineral crystals. Selected area electron diffraction patterns of the mineral show that diffraction reflections correspond to a very poorly crystalline hydroxyapatite. Electron microprobe analysis detected only phosphorus and calcium as elements intrinsic to the tissue. Conversion of X-ray intensity ratios of Ca/P to Ca/P molar ratios revealed an increase from 1.0 to 1.4 over a 100 um distance in a single ray studied in its growing distal region. Darkfield imaging of hydroxyapatite crystals showed that the c-axis or a,b-axis images of the mineral are distributed along the collagen fibrils in a manner without a specific association with either the hole or overlap zones of the protein.

Results suggest that mineral deposits of calcium phosphate are very small apatitic particles which undergo a progressive maturation in a distal to proximal direction.

ELASTOIDIN AND BONE DIFFERENTIATION DURING PECTORAL FIN REGENERATION IN THE GUPPY, Poecilia reticulatus. J. Géraudie and M. Singer\* Laboratoire d'Anatomie Comparée, Université Paris 7, and \*School of Medicine, Department of Anatomy, Case Western Reserve University, Cleveland.

After experimental amputation of the pectoral fins, restoration of the missing parts of the dermoskeleton (actinotrichia and lepidotrichia) occurs after rapid period of wound healing. Actinotrichia are the first signs of the progress of dermoskeleton restoration. They appear in the extracellular matrix facing the basal layer of the thickened wound epidermis, at the apex of the blastema. Then, they migrate laterally, under the epidermis, expand as the regenerate elongates distally while additional units are laid down apically. The overall process shows a disto-proximal sequence of development of the actinotrichia and the existence of two subpopulations of different fate.

In the guppy, lepidotrichia regenerate from the stump region in a proximo-distal direction. New bone substance is deposited on top of the severed bone by osteoblasts mainly located in the internal region of the bone stump. The newly developed bone soon undergoes a sharp directional change of orientation within the base of the regenerate which probably expresses new extracellular matrix arrangements. It grows towards the dermoepidermal interface and within the collagen fibrils of the basal lamella of the skin. The new bone is first composed of collagen fibrils immersed in a fine granular ground substance. Mineral crystals are then deposited, in a proximo-distal sequence within the organic matrix, the chemical nature being currently under study.

DETERMINACION DE HIDROCARBUROS POLICICLICOS AROMATICOS Y DE SU ACTIVIDAD MUTAGENICA EN MUESTRAS OBTENIDAS DEL MATERIAL PARTICULADO DEL AIRE DE SANTIAGO. (Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and of their mutagenic activity in Santiago's air borne particles). Gil, L. y Vásquez, H. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Muestras del material particulado del aire de Santiago (fracción respirable), obtenidas de diferentes zonas durante los meses de Julio, Agosto, Septiembre y Octubre de 1988, fueron extraídas con solventes orgánicos, determinándose su composición de hidrocarburos policíclicos aromáticos. De estos compuestos, se identificaron los siguientes: benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, benzo(a)fluoranteno, fenantreno, fluoranteno, pireno y criseno. Varios de estos hidrocarburos han sido descritos en la literatura como potentes agentes carcinogénicos después de ser activados por el sistema de monooxigenasas dependiente de citocromo P-450. Los niveles cuantificados de estos compuestos son más elevados que los obtenidos en determinaciones recientes en ciudades de Europa y Estados Unidos. Ensayos sobre la capacidad mutagénica de estos extractos mediante el test de Ames, indican que todas las muestras analizadas son altamente mutagénicas y que en algunos casos no se requeriría activación por el sistema de monooxigenasas. Estos resultados sugieren, que existirían en el aire de Santiago, agentes mutagénicos directos e indirectos.

Financiado por FONDECYT proyecto 0863.

EFFECTO DE LA HIPEROXIGENACION EN LA PROLIFERACION CELULAR EN MERISTEMOS. (Hyperoxygenation effect on meristem cell proliferation). Giménez-Abián, M.I. y De la Torre, C. Centro de Investigaciones Biológicas, C.S.I.C., Velázquez, 144. 28006-Madrid, España.

La hiperoxigenación del agua usada para crecer raíces secundarias de bulbos de *Allium cepa* L. produce una ligera reducción del ciclo celular en sus meristemas apicales, como se midió en una subpoblación sincrónica marcada como binucleada por un tratamiento corto con cafeína 5mM.

El acortamiento del ciclo no era debido a un mayor ritmo de progresión celular por todas y cada una de sus fases. Por el contrario, microdensitometría de núcleos teñidos con Feulgen en preparaciones autoradiográficas después de marcado con timidina- $H^3$  permitió observar que sólo el último tercio del periodo S (en el que los núcleos pasan de 3.34 a 4 veces el contenido de DNA haploide, C) y la etapa G<sub>2</sub> se ven disminuidas por la hiperoxigenación, pero no la etapa G<sub>1</sub> que, sin embargo, se ve alargada cuando se producen condiciones hipóxicas (Giménez-Abián et al., Environ. Exp. Bot. 27, 1987, 233).

El ligero alargamiento del centro del S (2.66 a 3.33 C of DNA) bajo hiperoxigenación y la constancia de G<sub>1</sub> sugiere que estas condiciones pueden estar afectando al daño basal del DNA y su reparación en el ciclo celular.

ORGANIZACION CROMOSOMICA EN MEIOSIS. (Chromosome organization in meiosis). Giménez-Abián, J.F., Giménez-Martín, G. y Rufas, J.S.\* UEI Reproducción Celular-CIB-CSIC. Velázquez, 144, 28006-Madrid, España y \*Depto. de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma. Madrid, España.

El empleo de la impregnación argéntica revela la existencia de un eje cromatídico que permite la fácil identificación de los quiasmas en Metafase I de Ortópteros.

Cinetócoros, gránulos teloméricos y regiones organizadoras nucleolares se muestran relacionadas con dichos ejes.

Los ejes argentófilos han sido relacionados con el Scaffold o andamiaje cromosómico; su seguimiento a lo largo de la meiosis pone de manifiesto dos tipos de organización cromosómica claramente diferentes:

El primero de ellos es típica y exclusivamente meiótica apareciendo hasta el fin de la Metafase I. Se caracteriza por una disposición lateral de la cromatina con respecto a los ejes, deducida de la íntima asociación en pares que muestran los ejes de cromátidas hermanas, apareciendo individualizados únicamente en los quiasmas.

Con el comienzo de la Anafase I los ejes aparecen individualizados en toda su longitud recorriendo el centro de cada cromátida en forma similar a la organización del cromosoma mitótico, este cambio de organización cromosómica conlleva la resolución de los quiasmas sin mediar fenómenos de terminalización. Dependiendo de la especie estudiada los ejes cromatídicos en la segunda división meiótica pueden presentar o no, disposición helicoidal.

LUGAR DE ACCION DE LA CARBETAMIDA EN EL CICLO PROLIFERATIVO. (Site of carbetamide action in the cell cycle). Giménez-Martín, G., Giménez-Abián, M.I. y Giménez-Abián, J.F. Unidad "Reproducción Celular". C.I.B. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid, España.

El 1-(Etilcarbamoil)etil-fenil-carbamato o Carbetamida es un herbicida perteneciente al grupo de los carbamatos cuya actividad se relaciona con la producción de células multipolares y posterior progresión a células aneuploides.

Se ha estudiado el lugar de acción de la carbetamida en el ciclo celular proliferativo. A concentraciones de 0.3-0.4mM (70 ppm) de Carbetamida a 25°C a los 5 minutos, se observa un inicio de anafases multipolares cuyo número se incrementa a medida que se prolonga el tratamiento. Igualmente con tratamiento de 5 minutos existe incremento de anafases multipolares en tiempos sucesivos de recuperación alcanzando un máximo de 70% de las anafases a los 15 minutos de cesar el tratamiento. Aparentemente esto implica que el efecto de la carbetamida abarca un espacio de ciclo similar en tiempo a 15 minutos, el cual se extendería entre final de profase hasta inicio de anafase.

Las telofases multipolares se observan transcurrido el espacio que corresponde a la duración de las anafases, lo cual puede significar que la multipolaridad telofásica es una consecuencia de la fase anterior y no una actividad directa de la carbetamida.

LA ESTRUCTURA MORFOLOGICA DE YEMAS COMO DETERMINANTE EN LA ARQUITECTURA DE LA PLANTA. (Morphological structure of buds as determinants in the plant architecture). Ginocchio, R. y Montenegro, G. Laboratorio de Botánica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Las comunidades de matorral de Chile Central se caracterizan por una gran variedad de formas de crecimiento, desarrolladas en respuesta para optimizar el uso de los recursos disponibles y sobrevivir a un período temporal de déficit hídrico. Estando los arbustos siempreverdes y deciduos de verano bien representados en la composición florística del matorral cabe preguntarse ¿muestran todas las deciduas de verano arquitecturas y modelos de crecimiento similares? ¿siguen todos los arbustos siempreverdes similar progresión estacional en los eventos morfológicos?

A través de la construcción de modelos de crecimiento que muestran el ciclo anual fenomorfológico de especies representativas de las comunidades mediterráneas semiáridas de Chile Central, se determinó la posición y estructura morfológica de yemas de renuevo, el estado anatómico de protección y formación de primordios foliares, el período de brotación y el tipo de rama que origina.

Los patrones vegetativos corresponden al tipo de crecimiento intermitente en el cual permanecen verdaderas yemas en reposo, bien estructuradas y protegidas para superar el período crítico. La protección sobre el meristema apical esta dada por resinas gomosas, escamas suberificadas, brácteas lignificadas y tricomas filamentosos. Se describen e interpretan en términos de maximizar recursos, 9 patrones de crecimiento distintos para las especies del matorral que difieren en el tipo de rama que origina las yemas florales y en la morfología y elasticidad de las ramas vegetativas.

Proyecto FONDECYT 199/88 a G. Montenegro.

MICORRIZA VESICULO-ARBUSCULAR EN CONIFERAS DEL SUR DE CHILE (Vesicular-arbuscular mycorrhiza in Conifers from Southern Chile). Godoy, R. Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Con el objeto de contribuir al estudio del fenómeno de micotrofia, fueron investigadas 9 especies de coníferas endémicas del Sur de Chile y que corresponden a las familias Araucariaceae, Cupressaceae y Podocarpaceae.

Los resultados, permiten confirmar, la presencia de infección con micorriza del tipo vesículo-arbuscular para todas las especies estudiadas. Se entregan descripciones morfo-anatómicas de la infección en la raíz, especialmente los nódulos radicales; documentadas mediante microscopía óptica y electrónica.

Se discute la importancia de las asociaciones simbióticas en las comunidades boscosas nativas del Sur de Chile y el significado, para las especies en vías de extinción.

ORGANIZACION DEL CENTROMERO EN LOS CROMOSOMAS DEL NEMATODO PARASCARIS. (Centromere organization in the chromosomes of the nematode Parascaris). Goday, C.<sup>1</sup> y Pimpinelli, S.<sup>2</sup> <sup>1</sup>Centro de Investigaciones Biológicas, C.S.I.C., Madrid, España. <sup>2</sup>Istituto di Genética, Università di Bari, Bari, Italia.

Mediante técnicas citológicas, inmunocitoquímicas y de microscopía electrónica se ha estudiado en distintos tipos celulares la organización del centrómero y su actividad cinética en los cromosomas holocéntricos de Parascaris univalens (2n=2). Se han analizado células mitóticas (mitosis goniales) y células meióticas (meiosis I y II) del tejido gonadal, así como células presomáticas en embriones durante el proceso de eliminación de heterocromatina.

Los resultados muestran que en Parascaris existe diferente actividad centromérica en relación a la naturaleza eu/heterocromática de las regiones cromosómicas cinéticamente activas en los tres tipos celulares estudiados.

La presencia de diferentes estados funcionales del centrómero, en condiciones fisiológicas, convierte a Parascaris en un buen modelo para estudiar la organización del centrómero en relación a su actividad funcional.

EFFECTO DIFERENCIAL DE LA UREMIA EN LOS DIFERENTES SUBTIPOS DE  $Na^+/K^+$  ATPase MUSCULAR. (The effect of uremia in  $Na^+/K^+$  ATPase isozymes of rat skeletal muscle) Goacke, J., Muñoz, Y., Richard, L., Alvo, M. y Marusic, E. I. Dpto. Fisiología y Biofísica, Fac. Medicina, Univ. de Chile.

Datos recientes de nuestro laboratorio muestran que la insuficiencia renal crónica se asocia con una intolerancia extrarrenal al  $K^+$  que se correlaciona con una disminución de la actividad  $Na^+/K^+$  ATPase muscular esquelético y que el efecto de la insulina sobre el metabolismo extrarrenal del  $K^+$  in vivo no sólo se mantiene en la uremia, sino que es aún mayor que en la situación control. Esto hace interesante estudiar la posibilidad de un efecto diferencial de la uremia en las dos isoformas de la  $Na^+/K^+$  ATPase que coexisten normalmente en músculo esquelético (alfa(+), de alta afinidad por ouabaina y sensible a insulina; y, beta, de baja afinidad por ouabaina e insensible a insulina).

Para esto se utilizaron ratos S.D. normales y urémicos (refractario: S/6, creatinina plasmática:  $2,2 \pm 0,5$  mg/dl) en los cuales se evaluó sensibilidad a ouabaina y efecto de insulina (100 mU/ml) en la captación de  $Rb^{86}$  sensible a ouabaina en músculo soleo.

Los resultados se expresan como porcentaje de actividad, encontrándose que la insulina estimuló la captación en un  $80,2 \pm 13,0$  % en ratos control v/s un  $265,3 \pm 131,0$  % en ratos urémicos y que mientras en las ratos control la actividad de la  $Na^+/K^+$  ATPase muscular se inhibió en un  $50,7 \pm 6,2$  % a una concentración de ouabaina de  $10^{-5}$  M, en las ratos urémicos a esas concentraciones hubo una inhibición de un  $85,8 \pm 12$  %.

En base a esto podemos concluir que el mayor efecto de la insulina sobre la homeostasis del  $K^+$ , en la uremia, se puede deber a una alteración de la proporción normal de isoenzimas de la  $Na^+/K^+$  ATPase en músculo esquelético con un aumento de la isoforma alfa(+), y una disminución de la beta.

Trabajo financiado por Proyecto 154/88 de FONDECYT

INDUCCION DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA (PEPCK) DE LEVADURAS EN CONDICIONES GLUCONEOGENICAS. (Induction of yeast phosphoenolpyruvate carboxykinase under gluconeogenic conditions). Gómez, C., Alonso, P. Departamento de Química, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile (Patrocinio: E. Cardemil).

El control de la gluconeogénesis a partir de intermediarios C3 y C4 se realiza principalmente a nivel de la Fru 1,6 bis Pasa y de la PEPCK. En levaduras, estas dos actividades enzimáticas aumentan al crecer las células en etanol, sabiéndose que el control de la expresión de la Fru 1,6 bis Pasa se realiza a nivel de la transcripción de su gene. En cambio, no hay conocimiento sobre el mecanismo de regulación de la PEPCK en levaduras, y por ello con este trabajo se inician experimentos tendiente a aclarar este punto.

Se purificó a homogeneidad la PEPCK de *S. cerevisiae* S288C, y se obtuvo suero hiperinmune anti-PEPCK en conejos, cuyo título se determinó por inmunodifusión. Empleando este antisuero se montó el método de ELISA, utilizando un conjugado marcado con fosfatasa alcalina obteniéndose correspondencia entre concentración de antígeno y velocidad de la reacción fosfatásica. Mediante este método inmunológico se determinó la masa de la PEPCK en extractos de levaduras crecidas en condiciones glicolíticas y gluconeogénicas, obteniéndose correlación entre la actividad carboxiquinásica y la masa de la enzima.

Los resultados indican que el aumento en la actividad de la PEPCK en condiciones gluconeogénicas, se debe a un aumento en su masa. Se trabaja en la cuantificación del mRNA<sup>PEPCK</sup> para determinar el o los puntos de control del proceso. Financiado por DICYT-USACH.

USO DE PEPTIDOS DE FUSION COMO SONDAS PARA LA ESTRUCTURA DE TUBULINA. (Tubulin fusion peptides as a probe for tubulin structure). González, C. y Lagos, R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Con el objeto de determinar el significado funcional de los dominios estructurales de la tubulina, se ideó un sistema para construir proteínas de fusión usando la región amino terminal de la beta-galactosidasa unida a la región carboxilo terminal de la tubulina. La expresión en bacterias de esta proteína está sujeta a inducción por IPTG.

Para este propósito se usó la serie de vectores pUC, los cuales contienen un polylinker en la región del DNA correspondiente al amino terminal de la beta-galactosidasa. Así, es posible seleccionar una enzima de restricción que corte tanto el vector como el cDNA de tubulina, de modo que al unirlos queden en un marco de lectura apropiado.

La región de nuestro interés en la tubulina es la correspondiente al carboxilo terminal, pues aquí se unían algunos metales bivalentes que regulan la polimerización y despolimerización de la tubulina, definiéndose como un dominio funcional. Con esta aproximación será posible obtener separadamente la región carboxilo terminal de alfa y beta tubulina, lo cual no ha sido posible de hacer por métodos físicoquímicos tradicionales con la tubulina nativa.

Se construyeron 2 plasmidios quiméricos que codifican para péptidos que contienen 52 y 100 aminoácidos de la región carboxilo terminal de la beta tubulina. Se está trabajando en la identificación y purificación de estos péptidos.

Financiado por DTI y Fondecyt.

ACCION DE METILERGONOVINA EN EPITELIO DE ALTA RESISTENCIA (Action of methylergonovine on high resistance epithelium). González, C.; Parra, S. y Parada, B. Departamento de Agroindustria y Ciencias Ambientales, Universidad del Bio-Bio. (Patrocinio: I. Bravo.)

Los alcaloides del ergot fueron los primeros agentes en ser empleados para iniciar o acelerar el trabajo del parto. Entre estos, metilergonovina (ME) es uno de los representantes mas importantes atribuyéndosele actividad tocolítica particularmente al término del estado de preñez en humanos. No se conoce sin embargo, si su acción es sobre receptores específicos en la musculatura lisa. Este trabajo fue realizado con la finalidad de determinar su acción en epitelio transportador de alta resistencia, sea por medio de receptores adrenérgicos, colinérgicos u otro mecanismo.

Piel abdominal aislada de sapo *Pleurodema thal* dispuesta en cámara de Ussing modificada fue sujeta por ambos lados a solución Ringer normal y ME (50µM) fue adicionada al medio de baño mucosal, ante esto, la diferencia de potencial transepitelial (DP) y corriente de cortocircuito (CCC) fueron aumentadas (p<0.01). El test de amilorida evidenció un aumento (p<0.01) de la fuerza electromotriz (EMa) y conductancia apical al sodio (Na).

Preincubando el lado mucosal de la piel con propranolol, atropina, d-tubocurarina o cuando el Ringer normal fue reemplazado por Ringer sin Ca<sup>2+</sup>, el efecto de ME persistió, no así al preincubar la piel con indometacina o administrando previamente amilorida (100µM) al medio mucosal.

Estos resultados sugieren que ME genera en este epitelio un aumento al paso pasivo y activo de sodio mediante el aumento de la síntesis de prostaglandinas.

Este trabajo fue realizado en colaboración con el prof.: L. Sobrevia.

ACCION DE BLOQUEADORES DE CANALES DE CALCIO EN SINAPSIS NEUROEPITELIAL (\*)

(Action of calcium channels blockers on the neuro-epithelial synapsis) González, C., Norris, B., Concha, J. y Contreras, G. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

En trabajos previos hemos demostrado que en una preparación nervio-piel, la estimulación del nervio produce aumento de la diferencia de potencial (DP) y corriente de corto circuito (CCC). La variación de estos parámetros se debe a estimulación de fibras postganglionares simpáticas que liberan noradrenalina. Este mediador actuaría sobre receptores beta adrenérgicos. En este trabajo se estudia la acción de Verapamil, Nifedipina y Diltiazem sobre la sinápsis neuro-piel.

Se trabajó en preparación neuro-piel aislada. C. caudiverbera en cámara tipo Ussing. La DP y CCC fueron registradas simultáneamente mediante un clampeador de voltaje automático.

Verapamil (Vp), Nifedipina (Nf) y Diltiazem (Dt) disminuyeron significativamente la CCC. Verapamil y Diltiazem fueron mas activos que Nifedipina en su acción bloqueadora. Amilorida 10<sup>-4</sup> M no bloqueó el efecto de la estimulación nerviosa, en cambio furosemida 10<sup>-4</sup>, lo inhibió. Después de bloquear el efecto de la estimulación nerviosa con Vp, Nf y Dt, noradrenalina 10<sup>-6</sup> M (NA) produjo el característico aumento de DP y CCC.

Se demuestra que el aumento de DP y CCC es debido a aumento del transporte de Cl<sup>-</sup> y no de Na<sup>+</sup>. El efecto de los bloqueadores de canales de Ca<sup>2+</sup> es presináptico ya que N.A. exógena tiene efecto después del bloque. Probablemente Vp, Nf y Dt inhibirían la liberación de N.A.

(\*) Proyectos: 20.33.30, 20.33.33 y 20.33.35

ENTRELAZOS DE LOS COLÁGENOS FIBRILARES AISLADOS (Crosslinking in isolated fibrillar collagens). González, E. y Adames, H. Departamento de Ciencias BIOLÓGICAS ANIMALES, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

El colágeno, una de las macromoléculas de la matriz extracelular más ampliamente distribuida, se presenta en mayor proporción como colágenos fibrilares de los tipos genéticos I - II y III en distintos órganos y tejidos. Estos colágenos se caracterizan por su estructura particular, triple helicoidal, con grupos aldehídos que participan en la formación de distintos entrelazos relacionados con el tipo de colágeno y con su estado de maduración. Los grupos aldehídos, entrelazados o no, reaccionan con el MBTH (N-Metil benzotiazolidón hidrazona) lo que se ha utilizado para identificar colágeno en cortes de tejidos, obteniéndose colores característicos.

En este trabajo se analiza el comportamiento de los colágenos fibrilares aislados, caracterizados por electroforesis, frente al reactivo MBTH estudiando los espectros U-V de la etapa de formación de azina y visibles de los productos coloreados.

Los espectros U-V de las azinas indican que las estructuras reaccionantes se relacionan con grupos aldehídos como tales o de los entrelazos y son características para cada tipo de colágeno; pero esto no se traduce en diferencias notables en los espectros de los productos coloreados. Se discute la relación entre las estructuras reaccionantes y los colores obtenidos en cortes de tejidos, los que podrían ser el reflejo de interacciones entre distintos componentes de la matriz extracelular entre sí o con el MBTH.

LA TIROXINA PRODUCE CAMBIOS CONFORMACIONALES EN LA PREALBUMINA DE SUERO HUMANO. (Thyroxine produces conformational changes in human serum prealbumin). González G. y Tapia G. Laboratorio de Bioquímica, Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

Se efectuaron estudios de fluorescencia de los dos triptofanos de la prealbúmina para detectar cambios conformacionales inducidos por la unión de la tiroxina a sus dos sitios de interacción. Los triptofanos fueron excitados a 295 nm y su fluorescencia medida entre 300 y 400 nm. El efecto de la temperatura muestra energías de activación diferentes para las situaciones de sitios de unión saturados con tiroxina y sitios de unión vacíos. La heterogeneidad de los triptofanos, detectada por excitación en el extremo rojo de su espectro de absorción, se hace menos aparente durante la interacción con la tiroxina. El efecto de los apagadores acrilamida y yoduro sobre la fluorescencia de los triptofanos muestra que sus entornos se hacen semejantes con la interacción de la prealbúmina con la tiroxina. Estos resultados demuestran que la tiroxina produce un cambio conformacional en la prealbúmina en su asociación con la tiroxina, que explica las distintas constantes de asociación de los dos sitios de unión, a pesar de ser estructuralmente idénticos.

Proyecto FONDECYT 89-8156.

PRESERVACIÓN HIPOTÉRMICA DE EPIDÍDIMOS DE COBAYO (Guinea pig epididymal hypothermic preservation) González-Figueroa, H., Llerena, G., Del Pino, J., Valdivia, M. y Crosby, J. Laboratorio de Biología Celular Inst. Inv. "Antonio Raimondi" Fac. Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

La preservación hipotérmica de caudas de epidídimo en el medio SM (22,13 mM de piruvato), permite estudiar la vida fértil del espermatozoide de cobayo in vitro.

Las caudas se envasan en tubos de cultivo y se mantienen a 5°C, cada 4 días son trasvasadas a medio fresco. El movimiento masal de los espermatozoides epididimarios en una suspensión patrón, indica el tiempo de supervivencia. Para analizar motilidad, reacción del acrosoma y penetración espermática en ovocitos de hamster sin zona pelúcida, alícuotas de la suspensión patrón se incuban a 37°C en el medio SM.

A partir de los 45 min. de incubación se encuentra, en todos los casos, 35% de espermatozoides hiperactivados, número que se incrementa en 23% a los 60 min. El porcentaje de espermatozoides con reacción del acrosoma es el mismo a las 24 hrs. (66%) y 120 (67%) en relación al 55% observado a las 264 hrs. Las dispersiones de cromatina espermática por ovocito, en promedio, alcanzan a 4,26 (1-5), 4,96 (1-8) y 2,75 (1-11) a las 0, 120 y 264 hrs. respectivamente.

Si bien es cierto que la supervivencia espermática se prolonga por 336 hrs., la capacidad fecundante persiste hasta las 264 hrs.

Se discute el posible rol del piruvato durante la preservación hipotérmica así como en los procesos que inician la capacitación y reacción del acrosoma del espermatozoide de cobayo in vitro.

(Investigación financiada por el CONCYTEC)

BLOQUEO in vitro DE LA REACCIÓN DEL ACROSOMA DEL ESPERMATOZOIDE DE COBAYO POR TIOPROPERAZINA (in vitro acrosome reaction of guinea pig spermatozoa blockade by thioproperazine). González-Figueroa, H., Llerena, G., Del Pino, J., Valdivia, M. y Crosby, J. Lab. Biología Celular. Inst. Inv. "Antonio Raimondi". Fac. Ciencias Biológicas. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

En el espermatozoide de mamífero la reacción del acrosoma, una vez ocurrida la capacitación, es dependiente del influjo de  $Ca^{+2}$ , siendo los agentes promotores del ingreso de este ión los que también adelantan el inicio de la reacción acrosomal. Los mecanismos bioquímicos relacionados a la actividad del calcio en eventos celulares subsiguientes son poco conocidos.

Se han realizado bioensayos incubando espermatozoides de cobayo, por 2hr a 37°C, en los medios San Marcos (SM), SM-sin  $Ca^{+2}$ , SM-tioproperezina, SM-sin  $Ca^{+2}$ -tioproperezina. Al término de este tiempo, se adicionó a los cultivos 5mM de imidazol para sincronizar la reacción del acrosoma. Otros bioensayos consistieron en agregar primero tioproperezina y luego imidazol a los cultivos en SM y en SM-sin  $Ca^{+2}$ .

La reacción del acrosoma en SM (78%) se reduce drásticamente (7%) por efecto de la tioproperezina. En el SM-sin  $Ca^{+2}$ , la reacción solo ocurre cuando se adiciona SM-imidazol (54%) a las dos horas de cultivo.

La sobrevida espermática (> 4 hrs.), demuestra que 0.1 ug/ul de tioproperezina no es tóxico para el espermatozoide y su acción sería la de un bloqueador potencial de la reacción del acrosoma. Es posible que la tioproperezina, antagonista de la calmodulina, impida que el calcio extracelular inicie los procesos moleculares que conducen a la reacción del acrosoma en el espermatozoide in vitro.

(Investigación financiada por el CONCYTEC)

**ANÁLISIS TEMPORAL DE LA DIVERSIDAD DE LA ASOCIACIÓN DE MICROMAMÍFEROS EN UNA SUCESIÓN SECUNDARIA DEL BOSQUE NIGROFILLO TEMPLADO.** (Temporal analysis of diversity of small mammals association in a secondary succession of the temperate rainforest). González, L.A., Murúa, R. y C. Jofré. Instituto de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

La pluviselva valdiviana presenta algunas áreas con diferentes etapas sucesionales producidas por perturbaciones antropogénicas (tala, fuego), que determinan una mayor heterogeneidad espacial. El estrato arbustivo, al cual preferentemente se asocian las especies de micromamíferos sufre cambios en el tiempo. La pregunta que surge, es si la diversidad como descriptor de la estructura de la asociación de micromamíferos muestra cambios concurrentes a los de la vegetación. Con este objeto, se realizó un estudio temporal de la diversidad en una área abierta entre 1980 y 1987 y como control un área de bosque típico. Se instalaron retículos de trapeo (10 x 10 trampas Sherman, 1 por estación, 10 m intervalo) en cada área. Se calculó la diversidad (Shannon-Weaver), el mínimo número de supuestos vivos (Hilborn et al, 1976), tasas de incremento y pérdida, y la disponibilidad de semillas en el bosque.

La diversidad anual muestra una tendencia a decrecer a medida que progresa la sucesión. Se comprobó la existencia de variación estacional de la diversidad con patrones anuales comunes, con una disminución en el invierno, aumento en el otoño con diferencias en el verano y primavera. Estos cambios estacionales junto con las correlaciones observadas entre diversidad y disponibilidad de recursos, número de individuos y tasas de incremento y pérdida sugieren diferencias en las interacciones entre nichos ecológicos de las especies, de acuerdo a la concepción de organización de los sistemas ecológicos.

Parcialmente financiado por los proyectos S-83-50 y S-85-44 de la D.I.D., UACH.

**EFFECTOS ALELOPÁTICOS DE ÁCIDOS HIDROXÁMICOS DE TRIGO SOBRE AVENAS.** (Allelopathic effects of hydroxamic acid from wheat on Avena). González, L.F., Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (Patr. E. Canelo)

La *Avena fatua* L., constituye en Chile la principal maleza, gramínea asociada a los cultivos de trigo, informándose pérdidas de hasta un 70% en el rendimiento del grano cosechado.

La 2,4-dihidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona (DIMBOA), el principal ácido hidroxámico (Hx) del trigo, y su producto de descomposición 6-metoxi-benzoxazolin-2-ona (MBOA) inhiben el 50% del crecimiento de la raíz de *A. fatua* a concentraciones de 0.7 y 0.5 mM, respectivamente. Además, MBOA estimula el crecimiento de la raíz de *Avena sativa*, cultivo que tradicionalmente se rota con el trigo, a concentraciones menores que 1.5 mM, mientras que DIMBOA lo inhibe a todas las concentraciones probadas.

Experimentos de inducción del crecimiento por auxinas en coleóptilos de *A. sativa*, muestran que MBOA y DIMBOA-Glc, lo estimulan a concentraciones de hasta 100 µM, mientras que DIMBOA lo inhibe en este mismo rango. Experimentos similares con *A. fatua*, indican que DIMBOA, DIMBOA-Glc y MBOA, inhiben el crecimiento. Estos resultados sugieren que los efectos fitotóxicos de Hx sobre avenas estarían relacionados a una interferencia en el mecanismo de acción de auxinas, posiblemente a nivel de la unión hormona-receptor, de acuerdo a resultados recientes de la literatura.

**INDUCCIÓN DE SÍNTESIS DE DNA Y CRECIMIENTO GLANDULAR EN PARÓTIDA DE RATÓN VIA RECEPTORES  $\beta$ 1-ADRENÉRGICOS** (Induction of DNA synthesis and gland growth in mouse parotid through  $\beta$ 1-adrenergic receptors) González, M.J., Peña y Lillo, S., Alliende, C. y Brañes, C. Dpto. Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los receptores  $\beta$ -adrenérgicos han sido clasificados en los subtipos  $\beta$ 1 y  $\beta$ 2. En las células acinares de las glándulas parótidas de ratón, tanto la inducción de síntesis de DNA como de crecimiento celular por isoproterenol han sido vinculadas a la mediación de receptores  $\beta$ -adrenérgicos. En este estudio se busca establecer una mediación de subtipos específicos de receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la inducción de las respuestas celulares mencionadas. Con este fin, se analizó el efecto sobre la velocidad de síntesis de DNA y el tamaño glandular por parte de agonistas  $\beta$ -adrenérgicos selectivos para receptores tipo  $\beta$ 1 (Dobutamina) o tipo  $\beta$ 2 (Salbutamol) y de antagonistas selectivos para receptores  $\beta$ 1-adrenérgicos (Atenolol) o  $\beta$ 2-adrenérgicos (I.C.I. 118551).

Tanto Dobutamina como Salbutamol fueron inductores de síntesis de DNA y de crecimiento glandular. Sin embargo, las dosis de Salbutamol requeridas para la inducción de ambas respuestas fueron significativamente mayores a las correspondientes de Dobutamina. Las respuestas inducidas por Dobutamina, Salbutamol e Isoproterenol (agonista  $\beta$ 1 $\beta$ 2-adrenérgico), fueron suprimidas por Atenolol. El análisis inmunocitoquímico de receptores adrenérgicos tipo  $\beta$ 2 señala su escasa presencia en las células acinares.

Nuestros resultados sugieren que tanto la inducción de síntesis de DNA como la de crecimiento glandular son mediadas por receptores adrenérgicos del subtipo  $\beta$ 1.

Proyectos DII-U. de Chile B-2366 y FONDECYT 0793-89

**DESARROLLO INTRACAPSULAR DE CONCHOLEPAS CONCHO LEPAS**, Bruguiere, 1789. (Intracapsular Life History of *Concholepas concholepas* (Bruguiere, 1789)). Roberto González-Plaza and Nivaldo C. Inestrosa. Molecular Neurobiology Unit, Faculty of Biological Sciences, P. Universidad Católica de Chile.

La historia de vida de *Concholepas* contempla un período de desarrollo intracapsular luego del cual las larvas velíferas entran en la columna de agua y una fase planktónica de duración aproximada de 10 semanas. Estudios de microscopía óptica describen sólo algunos detalles de los cambios morfológicos que ocurren durante el desarrollo. Hemos iniciado un análisis ultraestructural de la ontogenia de este muricido presentado aquí, nuestras primeras observaciones de microscopía electrónica de barrido. Embriones de distintas edades obtenidos de cápsulas mantenidas artificialmente, se fijaron con glutaraldehído al 3% y se prepararon para SEM. Larvas velíferas fueron relajadas con MgCl<sub>2</sub> o CoCl<sub>2</sub>. Las muestras se recubrieron con oro y fueron observadas a 23 kV en un microscopio JEOL 25-SII.

La biomineralización de la concha y la formación del velo se inician concomitantemente durante el estado de trocófora transiente. En la superficie inferior del embrión se inicia una onda de mineralización de ornamentación característica. Los embriones provenientes de cápsulas "púrpuras" de distintas edades presentan estructuras aberrantes, mostrando cierta regularidad en su morfología anormal.

En colaboración con Claudio Barros. Financiado por FONDECYT Sectorial; 495/89; IFS 1407-1.

ACTIVACION POR ASPARTATO DE LA PIRUVATO QUINASA DE RIÑÓN DE CONCHOLEPAS CONCHOLEPAS (Aspartate activation of pyruvate kinase from the kidney of *Concholepas concholepas*). González, R., Kessi, E. Carvajal, N. Depto. de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

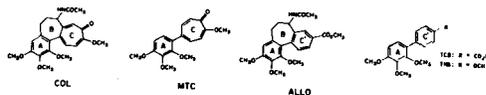
La piruvato quinasa del riñón de *C. concholepas* presenta una cinética sigmoidea con respecto al fosfoenolpiruvato ( $S_{0.5} = 0.28$  mM;  $n_H = 1.92$ ) y una cinética hiperbólica con respecto al ADP ( $K_m = 0.29$  mM). Además de la fructosa 1,6-difosfato, el aspartato es activador de la enzima y la cinética de saturación para ambos sustratos es hiperbólica. En contraste, se observa cooperatividad en la interacción de la enzima con el efector negativo alanina ( $I_{0.5} = 0.23$  mM;  $n_H = 1.25$ ). El efecto inhibitorio es sólo parcialmente revertido por los activadores, siendo la fructosa 1,6-difosfato mucho más eficiente que el aspartato. La actividad de la enzima disminuye desde  $3.45 \pm 0.15$  unidades/g de tejido húmedo en el riñón aeróbico a  $1.1 \pm 0.20$  unidades/g en el tejido de animales sometidos a condiciones de anoxia ambiental. Sin embargo, los parámetros cinéticos para los sustratos y los efectores alostéricos, no son alterados por el estrés anóxico. Se sugiere que el aspartato desempeña un rol importante durante el período inicial de una exposición de los animales a condiciones de anoxia.

Proyecto 20.31.30 y 20.31.31, Dirección de Investigación Científica, Universidad de Concepción.

Proyecto FONDECYT 82/87.

DESIGN AND MODE OF ACTION OF COLCHICINE ANALOGUES THAT BIND REVERSIBLY TO TUBULIN. Gorbunoff, M.J., Timasheff, S.N., Medrano, F.J. and Andreu, J.M. Grad. Dept. Biochemistry, Brandeis Univ. Waltham, MA 02254, U.S.A. and Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, 28006-Madrid, Spain.

The binding of colchicine to tubulin is an essentially irreversibly process which has as consequences: a) the inhibition of microtubule formation, b) the induction of a GTPase activity in tubulin, c) the polymerization of tubulin into aberrant structures. Since colchicine binds by a bidentate mechanism (rings A and C) as does allocolchicine (ALLO) (in which the tropolone ring C is replaced by a phenyl radical, ring C'), biphenyl analogues of allocolchicine were synthesized containing a methyl ester (TCB) or a methoxy (TMB) group in the para position of ring C'. They were found to bind specifically into the colchicine binding site on tubulin. The equilibrium binding constants measured at 20°C, pH 7.0, were: TCB:  $1.0 \times 10^5 M^{-1}$ ; TMB:  $1.0 \times 10^5 M^{-1}$ . For ALLO and the A-C colchicine analogue (MTC) they were:  $9.2 \times 10^4 M^{-1}$  and  $4.6 \times 10^5 M^{-1}$ , respectively, showing that elimination of ring B reduced the  $\Delta G^\circ$  of binding by 1.4 kcal/mol, while changing ring C to C' reduced the affinity by 1.0 kcal/mol. Microtubule inhibition was found to be substoichiometric for ALLO and MTC and stoichiometric for TCB and TMB, while the induction of aberrant polymers was also strongest by the first two compounds. All compounds induced a GTPase activity in tubulin to a similar extent. (Supported by NIH grant CA-16707).



ESTUDIO CITOQUÍMICO DE PROTEOGLICANAS (PG) EN GLÁNDULAS SUB MANDIBULARES (SMG) DESPUES DE USAR DIFERENTES MARCADORES CATIONICOS. (Cytochemical study of Proteoglycans (PG) in rat submandibular glands (SMG) with use of different cationic probes.

Grenski\*, W; Souza\*, S.J.; Wal\*, D.; Quintilhan\*, M.C. T.; Hartmann\*, I. and Cutler\*\*, L.S. \*Dept. of Cell Biology - UFPR - Brazil; \*\*Dept. of Oral Diagnosis - UCHC - Farmington - USA.

One of the most important steps in morphogenesis is the formation of basement membrane (BM) as an integral structure defining and limiting the architecture of the tissues. We now show the distribution of PG in 16-day SMG rudiments. The material was immersed in 2.5% glutaraldehyde with 0.05% Ruthenium Red (RR), 0.1% Safranin O (SO) or 0.2% RR plus 2% Alcian Blue (AB). After washing in an appropriate buffer, the specimens were post-fixed with 1% OsO<sub>4</sub> containing the appropriate cationic dye, dehydrated and embedded in EPON.

With cationic dyes, many mitochondria and polysomes were observed, as well as an well-defined marginal cytoskeleton. A periodic thickness in the plasmatic membrane and vesicles between them, was also noted, as was visualized a few and highly RR-positive sites on collagen fibrils. This reaction was also present in the mesenchymal-epithelial interface. RR-positive granules were variable in size, according to their localization in *laminae rarsae externae*, *laminae rarsae internae* or connective stroma. This feature was also seen using the RR-AB technique. The filamentous aspect of BM was more evident using SO.

INFUSION DE INHIBIDORES DE LA SINTESIS DE PROSTAGLANDINAS INICIAN LA VENTILACION EN FETOS DE OVEJAS. (Infusion of prostaglandin synthetase inhibitors initiate ventilation in fetal lambs). Guerra, F.A., Campos, G.A., Apple, K. y Kitterman, J.A. Instituto de Fisiología, Obstetricia y Ginecología, Universidad Austral de Chile. Cardiovascular Research Institute, UCSF, USA.

La disminución de los niveles de prostaglandinas (PGs) en el recién nacido podrían estar involucrados al inicio y mantención de la ventilación. Basado en lo anterior, decidimos determinar si la infusión de inhibidores de la síntesis de PGs (indometacina, IND o meclofenamato, MEC) son capaces de iniciar la ventilación en fetos de ovejas cateterizados crónicamente. Cinco fetos (135-143 días de gestación) fueron operados insertándoseles catéteres arteriales, venosos y traqueales. 24-48 h más tarde se efectuó un registro basal de 30 min. Luego se inició la administración de un flujo de O<sub>2</sub> a través de un catéter traqueal (2-6 l/min). Transcurridos 30 a 60 min se inició la infusión de IND (n=4) o MEC (n=1). Durante los experimentos se registró en forma continua la ventilación, frecuencia cardíaca, presión arterial y traqueal y se tomaron muestras para pH y gases arteriales. La administración de O<sub>2</sub> no causó cambios significativos en ninguna de las variables mencionadas. Durante la infusión de IND o MEC se observaron movimientos respiratorios (MR), una ventilación de sobre 50 ml/Kg/min y un alza de PO<sub>2</sub> de 20 a 242 torr (X p < 0.05), sin cambios significativos de PCO<sub>2</sub> y pH. La infusión de PGE<sub>2</sub> (n=2) y PGE<sub>2</sub>a (n=1) disminuyó los MR y se produjo una lenta caída de PO<sub>2</sub>. Concluimos que la infusión de inhibidores de la síntesis de PGs en fetos de ovejas induce MR enérgicos, los que son capaces de iniciar la ventilación pulmonar. En contraste, infusión de PGs revierte este proceso. Estos resultados concuerdan con la hipótesis que la disminución de los niveles de PGs en el recién nacido serían uno de los factores asociados al inicio y mantención de la ventilación.

(Proyecto FONDECYT 932/88).

EL CITOESQUELETO DURANTE LA CITODIFERENCIACION GAMETICA. (The cytoskeleton during gametic-cytodifferentiation). R. Guerra-M., P. Esponda F. Departamento de Biología, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso. Centro de Investigaciones Biológicas (C.S.I.C.), Madrid, España.

La adquisición de la forma alargada, compacta y extremadamente polarizada del gameto masculino, estaría implicando, sin lugar a dudas, la participación del Citoesqueleto, responsable de la organización espacial de las distintas estructuras celulares, como también de la mantención de una determinada arquitectura celular.

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la presencia y localización de algunos elementos citoesqueletales como la Tubulina, Vimentina y Filamina, mediante inmunofluorescencia indirecta y filamentos de Actina mediante el método directo con la Falloidina-FICT, durante la Espermiogénesis y Espermatocitocitosis de dos especies de tetrópodos (Orthoptera).

Durante la Espermiogénesis la Tubulina aparte de estructurar el flagelo, interviene en la formación de la Manchette que rodea al núcleo, jugando quizás un papel destacado en la elongación y la forma de la cabeza del gameto; asimismo, la Tubulina aparece constituyendo microtúbulos que rodean al ACROSOMA durante su formación y probablemente dirigiendo la organización de esta estructura. La Actina aparece como gruesos manojos en los estadios tempranos; en la espermátida adulta se observa una cantidad notable en el espacio subacrosomal y en las prolongaciones laterales del acrosoma. La Filamina aparece también en regiones definidas de la espermátida, aunque en poca cantidad en el espermatocito. La Vimentina aparece participando especialmente en la estructura de la espermátida.

En el gameto maduro estos elementos citoesqueletales se mantienen especialmente en el territorio acrosomal, cumpliendo probablemente papeles importantes en el mantenimiento y preservación de la estructura acrosómica hasta la fecundación y permitiendo su estabilidad durante el desplazamiento del gameto.

CAPTOPRIL INHIBE LA ALDH HEPATICA Y AUMENTA LA PRODUCCION VASCULAR DE PROSTACICLINA. (CAPTOPRIL INHIBITS HEPATIC ALDH AND INCREASES VASCULAR PROSTACYCLIN PRODUCTION). Guivernau, M., Tampier, L. Depto. Farmacología, Fac. Medicina, U. de Chile.

El efecto del disulfiran se debe a una inhibición de la aldehído deshidrogenasa (ALDH). La acumulación de acetaldehído (AcH) resultante estimula la producción de prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), desencadenando la reacción flushing que induce un rechazo al alcohol. Para evaluar la posibilidad de inducirlo con niveles no tan tóxicos de (AcH), estudiamos el efecto del captopril (C) en la PGI<sub>2</sub> y ALDH. Aortas de ratas Wistar se incubaron en Krebs con (C) y (AcH) solos y asociados. Prostaciclina se midió por radioinmunoensayo. Otro grupo recibió (C) 30 mg/Kg por 7 días; el testigo recibió 300 mg/Kg de disulfiran. Se administró alcohol (2.7 g/Kg) y se midió en la sangre el etanol y (AcH) por cromatografía de gases. Además, mitocondrias hepáticas se incubaron con 25-100 μM de (AcH) y se determinó su tasa de desaparición. Captopril duplicó la síntesis de (PGI<sub>2</sub>) en los vasos y potenció el efecto estimulante de (AcH) sobre la (PGI<sub>2</sub>). Las concentraciones medias máximas de (AcH) en sangre fueron: animales controles = 26 μM; tratados con disulfiran = 150 μM; con captopril = 43 μM. La actividad de la ALDH en mitocondrias fue inhibida en un 35 % por (C), lo que equivale a un 45% del efecto del disulfiran. El efecto estimulante de Captopril en la producción de (PGI<sub>2</sub>), unido a su acción inhibitoria de la ALDH plantea la posibilidad de manipular farmacológicamente la reacción flushing inducida por alcohol. La alternativa de desencadenarla con Captopril, en presencia de niveles no tan tóxicos de acetaldehído, constituye una proyección clínica interesante. Financiado por Proyecto FONDECYT 0988-88.

MARCAJON POR FOTOAFINIDAD DE LA H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>ATP-asa CON UN INHIBIDOR COMPETITIVO DE K<sup>+</sup>, DESCUBRIMIENTO DE UNA SUBUNIDAD β. (Labeling of H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>ATPase with a K<sup>+</sup>-competitive photoaffinity inhibitor, discovery of a β subunit). Gutiérrez, C., Muson, K., Hall, K., Pérez, G., Sachs, G. Laboratorio de Membranas Biológicas, Veterans Administration Medical Center University of California (UCLA), Los Angeles, CA 90034. (Patrocinio: X. Cecchi).

Tras haber sido sintetizada la sonda radioactiva <sup>3</sup>H-mDAZIP esta mostró inhibir competitivamente en oscuridad la H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>ATPasa gástrica de cerdo (K<sub>i</sub> = 2 μM). El inhibidor al ser irradiado con luz U.V. se une covalentemente a la enzima. Adiciones de K a la solución, durante la fotólisis resultan en una disminución tanto de la fotoinactivación como de la marcajón. Cuando la H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>ATPasa gástrica es digerida extensamente con tripsina y sometida luego a centrifugación, el 85% de la unión específica del inhibidor (protegido por K) permanece con las membranas. Estas se sometieron a geles de electroforesis en gradientes (10-21.5%) en presencia de SDS. La sonda radioactiva aparece distribuida en un rango de pesos moleculares que van de 8 Kd hasta 6.5 Kd. El péptido más extenso comienza con los aminoácidos LVNEPLA y esta secuencia se encontró localizada en la subunidad catalítica de la H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>ATPasa comenzando en Leu 854. Además, se secuenciaron 41 residuos de otro péptido más pequeño comenzando con AQPNSMP pero no se encontró que estos aminoácidos calzaran con la secuencia de la H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>ATPasa. Sin embargo, la secuencia del péptido corresponde en forma extensa con las isoformas β1 y β2 de la Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>ATPasa, demostrando esto la presencia de una subunidad β en la ATPasa gástrica de mamífero.

USO DE BIOADHESIVOS MARINOS PARA INMOVILIZAR ENZIMAS. (Use of marine bioadhesives to immobilize enzymes). Gutiérrez, E., de la Fuente, E. y Bursio, L.O. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Inmovilización de enzimas y células es un proceso de gran importancia para la construcción de biorreactores industriales. Hemos usado la proteína polifenólica (PP) adhesiva de tres especies de Mytilidos chilenos (*Mytilus chilensis*, *Choromytilus chorus* y *Aulacomytilus ater*) para inmovilizar β-galactosidasa. El método consiste en adherir en un tubo de 13 x 100 mm una cierta cantidad de PP en tampón 50 mM fosfato de sodio (pH 7.5). Después de lavar la PP no adherida se agrega una solución de enzima en un tampón 0.25 M fosfato de potasio (pH 6.5) que tiene además 0.15 mM MnCl<sub>2</sub> y 0.01 mM EDTA. Se incubó por 30 min a 20°C y el tubo se lava con el tampón para eliminar el exceso de enzima. En estas condiciones se logra inmovilizar más del 90% de la actividad enzimática, ensayada con o-nitrofenil-galactósido (ONPG). Tanto la enzima soluble (ES) como la inmovilizada (EI) muestran la misma velocidad de reacción. Las K<sub>m</sub> aparentes de la ES y EI fueron de 2.3 mM y 2.6 mM ONPG, respectivamente. El efecto del pH y temperatura en la ES y EI, la dependencia entre la cantidad de PP y el porcentaje de EI, así como la estabilidad en días de la EI serán discutidos. Estos estudios permitirán la construcción de un biorreactor a escala de laboratorio. (Financiado por Proyecto N° C-10083 de Fundación Andes y Convenio PROCASUR-UACH).

LOS EFECTOS DE LA ADICION DE AGUA Y NUTRIENTES EN LA COMPOSICION DEL BANCO DE SEMILLAS EN SUELOS DEL DESIERTO COSTERO DEL NORTE CHICO. (The effects of addition of water and nutrients on the soil seed bank composition in a coastal desert site of North-Central Chile). Gutiérrez, J.R., Segovia, A. y Correa, F. Departamento de Biología y Química, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena.

Se analizó los efectos de la adición de agua y nutrientes (N, P, K, Ca y Mg) sobre la composición del banco de semillas de suelos del desierto costero de la IV Región. Los experimentos se realizaron en dos parcelas, de 1 ha cada una, que diferían en la profundidad de una capa calcárea sedimentaria marina (tertel) en la localidad de Lagunillas, Coquimbo (30° S). Los tratamientos consistieron en la adición de N (10 g/m<sup>2</sup>), P (5 g/m<sup>2</sup>), K (30 g/m<sup>2</sup>), Ca (5 g/m<sup>2</sup>), Mg (8 g/m<sup>2</sup>) y tertel molido (50 g/m<sup>2</sup>) a cuadrantes de 3 x 3 m en cada parcela bajo dos condiciones de riego: 10 mm de agua aplicados mensualmente y sin riego. En cada uno de los cuadrantes se extrajo 2 muestras de suelo con un cilindro de 2 cm de diámetro por 5 cm de alto, después de dos años de aplicados los tratamientos. Se determinó el número y especie de semillas presentes en las muestras.

En la parcela 1, con tertel superficial, las semillas más abundantes fueron las de Erodium spp. y Chenopodium album L., mientras que en la parcela 2, con tertel profundo, las semillas más abundantes fueron las de Schismus arabicus Nees y Plantago hispidula R. et P. Sin embargo, no se detecta un cambio significativo en la composición de especies presentes en el banco de semillas atribuible a los tratamientos. El banco de semillas sería un reflejo de las especies más abundantes en las parcelas.

Estudio financiado por O.E.A.

UN FIJADOR ULTRAESTRUCTURAL COMO TRAZADOR DE ESPACIOS INTERCELULARES: OBSERVACIONES PREVIAS EN MUSCULO ESTRIADO VOLUNTARIO, CARDIACO Y OTROS TEJIDOS (An ultrastructural fixative as tracer of intercellular space: Preliminary observations on skeletal and cardiac muscle and other tissues) L.S.Gutiérrez y Burgos M.H. IHEM Facultad Medicina U.N.Cuyo, Mendoza Argentina.-

Interesados en lograr una mayor afinidad tintorial por las membranas celulares y la obtención de un trazador práctico y fácil de emplear, para la mostración de espacios intercelulares a nivel de microscopía electrónica, usamos el nitrato de níquel (Merck) el 1% disuelto en el buffer cacodilato 0.1M pH 7.2 con la adición de glutaraldehído el 5% o paraformaldehído-glutaraldehído (Karnovsky 1967).

La fijación se realizó por perfusión vía vascular, a través de ventrículo izquierdo, previo lavado con solución fisiológica. Luego de extraído los órganos se completa la fijación por 24 hs. refijándose en osmio más ferrocianuro de K (Karnovsky 1971). Luego de incluir en Epon o Spurr, las secciones ultrafinas son observadas sin tinción o coloreadas con uranilo-plomo en el microscopio electrónico Siemens I A.

Los tejidos observados muestran en general buena preservación marcada opacidad en los espacios intercelulares, incorporación en los tubulos "T", penetración en las vesículas de pinocitosis y en los discos intercalares del corazón.

Esta nueva técnica de fijación, por la regularidad en los resultados, la marcación de espacios intercelulares, por la posibilidad de reconocimiento de barreras hemototiales, la incorporación por pinocitosis, por la afinidad tintorial y la facilidad en su preparación y manejo, creemos que puede aportar ventajas en las técnicas para microscopía electrónica.

Con apoyo de CONICET Argentina.

LOS BIÓLOGOS, ¿PERCIBEN LOS PROBLEMAS AMBIENTALES DE CHILE? (Do biologists perceive environmental problems of Chile?). Hajek, E., Espinoza, G., Cross, P., y Joffe J.C. Departamento de Ecología e Instituto de Estudios Urbanos. P. Universidad Católica de Chile, Santiago.

Los problemas ambientales de Chile muestran una gran diversidad en las diferentes regiones administrativas. Su ordenación y sistematización, por importancia y por posibilidad de intervenir en ellos, permite configurar una visión integral del país y establecer bases para una aproximación a su resolución. Un adecuado conocimiento de la percepción que grupos de personas tienen sobre estas alteraciones del entorno, se convierte en una herramienta útil para aportar a las soluciones, dentro de una política ambiental.

Como parte de una investigación desarrollada para la identificación y análisis de la distribución regional de los problemas ambientales de Chile, basada en la percepción que cerca de 520 personas en las diversas zonas del país tienen sobre estos problemas, en esta presentación se hace un análisis de cómo los informantes (a través de la Técnica Delphi) califican estas alteraciones. Dado que los problemas ambientales se pueden distribuir en diversos ítemes que incluyen tanto el ambiente natural como el construido, es posible detectar y analizar las opiniones de cada grupo, en función de lo que percibe. En este caso, hemos analizado las opiniones y respuestas de los biólogos que han actuado como informantes calificados (un total aproximado de 37) en comparación con el resto de los participantes. Con ello se establece la importancia que le atribuyen a los problemas, su control y el peso que tiene su opinión en determinar las escalas relativas de problemas ambientales del país, en las áreas referidas al ambiente natural, y al construido.

Se discuten los principales resultados.

Financiado por Proyecto DIUC 95/87.

APLICACION DE LA PLANARIA DE AGUA DULCE Dugesia sanchezi PARA EVALUAR TERATOGENESIS (Application of the fresh water planarian D. sanchezi for evaluating, teratogenicity) Hermosilla, I., Gallardo, R. Depto. de Biología Molecular. Fac. Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales.. Universidad de Concepción.

La planaria de agua dulce D. sanchezi es un platel - minto de amplia distribución en Chile. Su fácil manejo en el laboratorio y su gran capacidad regenerativa constituyen factores importantes para nominarla como especie alternativa en ensayos de teratogénesis.

El presente panel muestra el bioensayo desarrollado para evaluar el impacto potencial del Pentaclorofenato de (PCP), un compuesto de uso permanente en las operaciones de la industria maderera en la Región del Biobío.

El procedimiento metodológico consistió en realizar cortes transversales inmediatamente detras de las aurículas y someter los fragmentos caudales a la sustancia test. Varias dosis se prepararon a partir de una solución stock de 2,5 mg L<sup>-1</sup> de Pentaclorofenato de Na(Merck) 1 tratamiento se mantuvo por 168 hrs., revovando las diferentes concentraciones y solución control cada 24 hrs. La teratogénesis fué evaluada en % de regeneración, mortalidad y malformaciones. Los ejemplares sometidos a dosis superiores a 600 ppb mueren antes de las 24 hrs. La dosis de 600 ppb causó mortalidad total a las 48 hrs. 400 y 500 ppb permitieron las sobrevivencia de las planarias, sin embargo, la regeneración alcanzó a un 57% a través de las 168 hrs. de tratamiento. Estas planarias parcialmente regeneradas evidenciaron alteraciones morfológicas a nivel de los ojos, aurículas y cola.

El bioensayo presentado es sensible, rápido, económico y fácil de manejar. D. sanchezi puede constituir un excelente modelo para evaluar desechos industriales, drogas, químicos y aditivos que pueden ser disueltos en el agua.

ABSORCIÓN DE TRIGLICÉRIDOS (TG) Y DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES (AGL) EN EL ENTERÓCITO DE *Pimelodus maculatus*. (Triglycerides and fatty acids absorption in *P. maculatus* enterocyte). Hernández Blázquez, F.J., Ferri, S. Departamento de Histología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidade de São Paulo.

Las vía metabólicas para la resíntesis de TG en peces y mamíferos son distintas. Los enterócitos de los primeros emplean la vía del  $\alpha$ -glicerofosfato y los otros, la vía del  $\beta$ -monoglicerol. Una vez que estas se asocian a membranas, diferencias morfológicas son observadas durante la absorción. Para estudiar mejor este aspecto, fue aislado el intestino proximal de ejemplares de *P. maculatus* que recibieron aceite de maíz y ácido oléico. A seguir fue fijado en glutaraldeído a 2% en tampón fosfato 0,1 M y pH 7,2, siguiendo después la rutina para observación en microscopio electrónico. Numerosas gotitas lipídicas (GL) sin membranas y diámetro variable (1 a 5  $\mu$ m) fueron encontradas en el citoplasma. Partículas lipídicas (PL) de inferior diámetro (70 a 100  $\mu$ m) son observadas dentro de las organelas (Golgi, REG, vesículas lisas y estructuras lamelares). Una membrana monolaminar las envuelve, pareciéndose así con las VLDL (Very Low Density Lipoprotein) de los mamíferos. La variación de materia grasa (TG o AGL) ofrecida no alteró la morfología. Las GL parecen ser una forma de acumulación temporaria de TG. Por su íntimo contacto con mitocondrias y con el REG se puede suponer que sean responsables por su síntesis, una vez que los enzimas de la vía del  $\alpha$ -glicerofosfato se encuentran en esas estructuras. Las PL parecen formarse de inicio en el REG, que produce vesículas lisas llenas de partículas. A lo que todo indica, es por medio de estas que las PL llegan al espacio intercelular. El Golgi participa en menor grado de su formación. Las PL representan la forma de transporte de la grasa absorbida, ejerciendo el papel que cabería a los quilomicras de los mamíferos, no encontrados en peces.

EFFECTO DE LA DROGA TUNICAMICINA SOBRE LA GLICOSILACION DE LA SECRECIÓN DEL ORGANÓ SUBCOMISURAL (Tunicamycin effect on the glycosylation of the secretion of the subcomissural organ). Herrera H.A. Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera.

El Organó Subcomisural es una estructura circunventricular, ubicado en la pared del tercer ventrículo, bajo la comisura blanca posterior. Secreta glicoproteínas, entre otros, hacia el líquido céfalo raquídeo del tercer ventrículo, donde se condensa en una estructura particular denominada Fibra de Reissner.

Con el objeto de determinar el tipo de glicoproteína sintetizada se evaluó el efecto de la droga Tunicamicina sobre la glicosilación de la secreción a través de la afinidad que por este material presentaron la lectina concanavalina A y la técnica de la peroxidasa anti peroxidasa utilizando un anticuerpo anti-Fibra de Reissner como antisuero primario.

Los resultados muestran que el material secretorio de las ratas sacrificadas 12 ó 24 horas posteriores a la inyección de la droga al ventrículo lateral no presentaron alteraciones a su inmunotinción ni a su afinidad por la lectina. El material secretorio de los animales sacrificados 50 ó 60 horas posteriores a la inyección de la droga conservó su afinidad en la técnica de la peroxidasa anti peroxidasa, pero careció de afinidad por la concanavalina A.

Los resultados permiten sugerir que:

1) la secreción del Organó Subcomisural es una N-glicoproteína y 2) esta estructura presenta una baja tasa de síntesis.

Financiado por las Direcciones de Investigación y Desarrollo de la Universidad de la Frontera y Universidad Austral de Chile.

CANALES IONICOS EN CELULAS DE MUSCULO ESQUELETICO HUMANO EN CULTIVO CONTINUO (Ion channels in cells from human skeletal muscle in continuous culture) Hidalgo J., Liberman J.L., Cisneros F. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se estudió la expresión de canales iónicos en una línea celular transformada de músculo esquelético humano normal y en clones de la misma, utilizando la unión de marcadores específicos para canales iónicos y el registro de canal único con la técnica de patch-clamp.

La línea celular une FW200-100, una dihidropiridina marcadora de canales iónicos selectivos a  $Ca^{2+}$ , con una Kd de 0.65 nM y una unión máxima de 0.3 pmoles/mg proteína. La unión de alfa-bungarotoxina es de 3 pmoles/mg proteína con una Kd = 1.9 nM. Estos valores son similares a los descritos para músculo diferenciado en cultivo.

Registros de canal único han mostrado la presencia de canales sensibles a acetilcolina. La actividad de los canales es muy baja cuando se registra sin despegar el electrodo de la célula. Sin embargo, la actividad de varios canales, de distinta conductancia, se hace evidente una vez que el electrodo es retirado de la célula. Los valores de conductancia obtenidos para uno de ellos en condiciones iónicas simétricas (140 NaCl/4 KCl/2 CaCl<sub>2</sub>/1 MgCl<sub>2</sub>/5 HEPES-Na; mM) es de  $16.5 \pm 1$  pSiemens usando 200 nM de ACh en la pipeta y  $23 \pm 1$  pS con 500 nM de Carbamilcolina en la pipeta. Se ha detectado además un canal de conductancia cercana a 50 pS en las mismas condiciones.

El establecimiento y caracterización de una línea celular de músculo esquelético humano nos permitirá estudiar aquellos procesos en que el número de células o la falta de una población homogénea ha sido una limitante.

Financiado por: NIH grant GM35981, FONDECYT 986 y DIT U. de CHILE 2123.

NEUROTENSINA: RECEPTORES Y UNA NUEVA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LA HORMONA. (Neurotensin: its receptors and a novel biological activity). M Hidalgo, MT Valdivia, I Marinovic, y J Szecowka, Deptos. de Ciencias Fisiológicas y Gastroenterología, P. Universidad Católica, (Patrocinio: H.R. Croxatto).

Neurotensina (NT) se une a receptores en el cerebro, intestino e hígado. En el cerebro actúa probablemente como neurotransmisor, en intestino afecta la musculatura lisa y en hígado su función es desconocida. NT se yodó con <sup>125</sup>I y el trazador <sup>125</sup>I-Tyr3-NT se empleó en estudios de ligamen. Membranas obtenidas de cerebros de ratas mostraron una afinidad por el trazador con una Kd=0,5 nM. Lectinas libres no impidieron la unión del trazador, lo que indicaría que el sitio de ligamen no se encuentra glicosilado. El receptor se solubilizó con digitonina 1% en presencia de lecitina, lo que permitió el uso de una columna de afinidad AffiGello-NT en su purificación. El receptor se purificó casi a homogeneidad y se puede concluir que se trata de una proteína de 50-55 kDa.

NT es secretada desde el intestino delgado e ingresa al hígado por vía portal. La hormona se administró al hígado perfundido aislado (70 ng/ml), recolectando la bilis. NT triplicó la excreción de colesterol (XOL) biliar, efecto dosis dependiente y acompañado por excreción de fosfolípidos y no de sales biliares. Esto indica que la excreción de XOL ocurre principalmente en forma de vesículas y no de micelas. Estos resultados proporcionan una posible función fisiológica para la NT intestinal. Además contribuyen a la comprensión de los mecanismos de la litiasis biliar ya que la hipersecreción biliar de XOL precede a esta enfermedad. FONDECYT 326/88.

ESTUDIOS FARMACOLÓGICOS DE RECEPTORES ACTIVADOS POR EL L-GLUTAMATO EN MÚSCULOS DE LARVA DE *DROSOPHILA MELANOGASTER*. (Pharmacological studies of L-glutamate receptors in *Drosophila larval muscle*). Hidalgo, P., Diaz, F. Depto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Centro de Estudios Científicos de Santiago. (Patrocinio: Pedro Labarca).

Los músculos ventrolaterales longitudinales de la larva de *Drosophila* poseen dos poblaciones de receptores activados por el L-glutamato (L-glu) (1). Una población representa receptores excitatorios activados también por ácido quinsálico, pero no por ácido aspártico ni por ácido N-metil-D-aspartico. La segunda población corresponde a receptores inhibitorios y es activada también por ácido kainico y GABA.

En estudios con electrodos intracelulares estas dos poblaciones se reflejan en que el L-glu induce una despolarización de la membrana del músculo en el rango de concentraciones 0 a 30  $\mu$ M, en tanto que concentraciones mayores inducen una repolarización gradual cuyo efecto depende de la presencia de cloruro en la solución que baña los músculos. La aplicación de GABA, a concentraciones micromolares, induce una ligera hiperpolarización de la membrana. Además el GABA es capaz de repolarizar la membrana cuando ésta ha sido despolarizada por la aplicación de L-glu.

Al tratar los músculos con concentraciones micromolares de quinacrina, un antagonista no competitivo de receptores de GABA, se abole la hiperpolarización inducida por este neurotransmisor.

El efecto de quinacrina es dosis dependiente, reversible y tiene un  $K_{0.5}$  aproximado de 3  $\mu$ M. La quinacrina no abole el efecto despolarizante de L-glu.

Los resultados experimentales indican que la quinacrina bloquea específicamente la activación de receptores inhibitorios presentes en músculo de larva de *Drosophila*, efecto que es dosis-dependiente y reversible.

(1) Delgado et al. FEBS letters, vol 233: 337-342.

Financiado por FONDECYT 1167-88, NIH SH-35981 y Tinker Foundation.

CLONAMIENTO DE DETERMINANTES DE ADHESIVIDAD E INVASIVIDAD DE *Aeromonas sobria* 830. (Cloning of *Aeromonas sobria* 830 adhesion and invasion determinants). Hinrichsen, Y., Soto, V., Solís, A., Figueroa, S., y Yagolevich, A. Unidad de Microbiología y Genética Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile e INTA Universidad de Chile.

La capacidad de bacterias enteropatógenas de adherirse y en algunos casos además invadir células de la mucosa gástrica es un elemento muy importante en el proceso de infección.

Con el objeto de caracterizar a nivel molecular los genes involucrados, y las características del proceso de adhesión e invasión; estamos estudiando este proceso en *Aeromonas sobria*. Para ello estamos utilizando la cepa *Aeromonas sobria* 830 proveniente de un aislado clínico que demostró ser enteroinvasor y enterotoxigénico.

A fin de identificar las funciones involucradas en estos procesos de adhesión y/o invasión, hemos construido en *E. coli* VCS257 un banco de genes de *Aeromonas sobria* en el cosmidio pHC79. Este banco ha sido utilizado para identificar clones de *E. coli* que han adquirido la capacidad de adherirse o invadir "in vitro" a células Hep-2 crecidas en monocapa. El estudio de la genoteca permitió aislar un clon al que denominamos 971 que adquirió la capacidad de invadir células Hep-2 y un segundo que denominamos A3 que es capaz de adherirse pero no es capaz de penetrar al interior de las células Hep-2.

Análisis del DNA presente en el clon 971 indica la presencia del cosmidio pHC79 y un inserto de 9,7 Kb. Análisis de DNA del clon A3 indica la presencia del cosmidio pHC79 y un inserto de aproximadamente 20 Kb.

Estudios morfológicos de las bacterias, realizados mediante microscopía electrónica de barrido permitieron demostrar cambios en la superficie de la cepa VCS257 utilizada para obtener la genoteca. Estos cambios se aprecian en el clon conteniendo el fragmento de DNA de *Aeromonas sobria* 830 que le confiere a éste la capacidad de ser invasor. También se aprecian cambios morfológicos en la superficie del clon que contiene el fragmento de DNA de *Aeromonas sobria* 830 que le confiere la capacidad de adhesión.

Financiamiento proyecto FONDECYT 398-88.

#### ALGUNOS CONSTITUYENTES DE *PILGERODENDRON UVIFERA* (Some constituents of *Pilgerodendron uvifera*)

Huaquín K., Reyes A., García H.

Instituto de Química, Universidad Austral de Chile

En relación con un estudio fitoquímica de la flora nativa austral, hemos iniciado con *P. uvifera* un análisis de metabolitos de las Cupresáceas chilenas. El examen bibliográfico mostró que tal familia contiene en esencia de ciprés (0,2-2%) compuesta por hidrocarburos (65-80%):  $\alpha$ -pineno,  $\alpha$ ,  $\beta$ -canfeno,  $\delta$ -silvestreno, p.cinol, 1-cadineno y alcanfor de ciprés, ésteres del terpenol con los ácidos: fórmico, acético y butírico. Respecto de compuestos fenólicos priman los flavonoides menores: flavanonas, isoflavonas y biflavonas.

*P. uvifera* en cantidad suficiente de análisis, seco y molido, procedente de Chiloé insular fue extraído por percolación hasta agotamiento en frío, con MeOH técnico. El extracto metanólico se fraccionó con solventes de polaridad creciente, desde  $\text{CHCl}_3$  hasta  $\text{AcOH}$ . Las fracciones polares, cromatografiadas sobre Sigel GF-254 Merck, han dado hasta el momento cuatro metabolitos:

Compuesto I. Sólido amarillo-verdoso de Rf. 0,3 en cromatoplasas de celulosa (TBA 3:1:1), con absorciones máx. al UV. MeOH 270, 292h, 334; MeOH:MeOH 274, 294h, 383;  $\text{AlCl}_3$  260h, 277, 300, 350, 397;  $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$  258h, 279, 300, 342, 384;  $\text{AcOH}$  270, 292h, 360;  $\text{AcOH} + \text{H}_2\text{BO}_3$  270, 329 ms. identificado como el biflavonilo Amentoflavona.

Compuesto II. Sólido amarillo intenso que funde con descomposición a 200°, Rf. 0,4, con absorciones UV en MeOH 255h, 273, 300h, 340; MeOH:MeOH 275, 300h, 393 (desc.);  $\text{AlCl}_3$  275, 315, 435;  $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$  260h, 277, 305, 355;  $\text{AcOH}$  265, 338, 390;  $\text{AcOH} + \text{H}_2\text{BO}_3$  265, 305, 370 ms. el cual fue caracterizado como una flavona con grupos hidroxilos libres en las posiciones 5, 3', 4', 5' y probablemente un OH-7 metoxilado; carece de grupos glicosídicos pues no se hidroliza ni migra en CCF con  $\text{AcOH}$  15%.

Los otros dos compuestos son del tipo éster: aceite de semilla de algodón (de composición conocida) y ftalato de octilo neutro; los más que fueron identificados por sus propiedades cromatográficas y espectroscópicas.

Se agradece el aporte de la Dirección de Investigación y Convenios Universidad Austral de Chile. Subsidio S-86-40.

MODULACION MU Y KAPPA OPIOIDE DE LA INFORMACION AFERENTE EN EL BULBO OLFATORIO. (Mu and kappa opioid modulation of afferent input in the olfactory bulb). Inostroza, H. y Hernández, A. Unidad de Neurofisiología y Biofísica, Área de Ciencias Biológicas, INTA. Universidad de Chile.

La actividad aferente al bulbo olfatorio es regulada a nivel de las neuronas de segundo orden, las células mitrales, por medio de sinápsis recíprocas dendrodendríticas que establecen con interneuronas de las capas periglomerular y granular. Aunque GABA aparece como el principal neurotransmisor involucrado en la modulación de la excitabilidad de las células mitrales, estudios inmunocitoquímicos señalan que la mayoría de las células periglomerulares contienen encefalina y que parte de las neuronas granulares contienen dinorfina. Ya que ambos péptidos han sido involucrados en inhibición de la información aferente en neuronas de segundo orden de otros sistemas sensoriales, se investigó si agonistas mu y kappa opioides son capaces de deprimir la actividad olfatoria aferente a nivel de las células mitrales. Se utilizaron ratas Wistar, curarizadas y anestesiadas con alfa-cloralosina, en las que se deafferentó quirúrgicamente uno de los bulbos olfatorios de influencias centrales. El nervio olfatorio ipsilateral se estimuló eléctricamente y se registró las respuestas evocadas mediante un electrodo bipolar. Como agonistas mu y kappa opioides se utilizó morfina clorhidrato (100 nM) y U-50488H (100 nM), los que se administraron tópicamente (10  $\mu$ l) sobre la superficie bulbar dorsal. Morfina deprimió el componente tardío de la respuesta evocada, efecto que fué revertido por 2 mg/kg de naloxona. U-50488H inhibió tanto el componente temprano como el tardío del potencial; naloxona no antagonizó este efecto. Los resultados muestran que los agonistas mu y kappa opioides pueden interferir la transmisión sensorial a nivel de las neuronas de segundo orden de la vía olfatoria, de un modo aparentemente similar que en el sistema nociceptivo.

Proyecto FONDECYT # 570/1988.

**ANALOGOS QUE INHIBEN LA DEGRADACION DE FOSFATIDIL- INOSITOL-4-FOSFATO.** (Analogos that inhibit the degradation of phosphatidylinositol-4-phosphate.) Jacob, G. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (Patrocinio: J.E. Allende.)

Un apreciable número de señales externas son transducidas a nivel de la membrana celular mediante un estímulo del recambio de fosfoinosítidos y la liberación de segundos mensajeros como inositol 1,4,5 trisfosfato y diacilglicerol. Muchas de las investigaciones sobre los mecanismos bioquímicos de esta transducción se realizan en oocitos de Xenopus laevis debido a la facilidad de microinyectar mRNA o proteínas en estas células. Es de mucho interés estudiar el metabolismo de los fosfoinosítidos y su regulación en este modelo. Principalmente se han estudiado las reacciones de biosíntesis y degradación de fosfatidilinositol-4-fosfato (PIP). En este trabajo se detallan los resultados obtenidos ensayando el efecto de análogos fosforilados sobre la degradación de PIP. Usando fosfatidilinositol-4- $^{32}P$  fosfato unido a las membranas de oocito, se ha observado que la radiactividad es liberada por enzimas degradativas presentes en las membranas. La presencia de 6 mM fructosa-1,6-bisfosfato o  $\alpha$ -glicerofosfato inhibe totalmente la actividad degradativa, mientras que 8 mM fructosa-2,6-bisfosfato causa un 40% de inhibición. Fructosa-6-P, Glucosa-6-P,  $\beta$ -glicerofosfato o 2,3-bisfosfoglicerato no tienen ningún efecto. Para dilucidar si la actividad degradativa corresponde a una fosfomonoesterasa o a una fosfolipasa C, se estudió por HPLC el compuesto que contiene la radiactividad proveniente de fosfatidilinositol-4- $^{32}P$  fosfato, encontrándose la totalidad de las cuentas como fosfato inorgánico. (Apoyado por FONDECYT, The Council for Tobacco Research y la Universidad de Chile.)

**ESTUDIOS SOBRE LA DIFERENCIACION CELULAR: MORFOGENESIS DE DOBLETES.** (Studies on cellular differentiation: morphogenesis of doublets). Jareño, M.A. Centro de Investigaciones Biológicas. Madrid, España.

El Ciliado Onychodromus acuminatus utilizado en este trabajo fue aislado de una muestra de agua del Coto de Doñana (Huelva, España), mantenido en el laboratorio a 21°C y alimentado con Chlorogonium. Las coloraciones utilizadas para su observación al microscopio óptico fueron: Feulgen, verde de metilo-pironina y proteinato de plata. Para el estudio de su ultraestructura los métodos normales de microscopía electrónica.

Los dobletes son organismos formados por dos células que en ciertos aspectos (división) se comportan como unidades morfológicas. En esta especie constan de dos cilias completas y poseen un eje de simetría bilateral. Se forman mediante una morfogénesis doble en el interior de un quiste que consta, aparte de las envueltas quísticas, de citoplasma y núcleos. Los macronúcleos parecen estar directamente implicados en el inicio y en el perfecto desarrollo de la doble morfogénesis. Su independencia dentro de un citoplasma común es indispensable para la perfecta diferenciación y posterior comportamiento como doblete. Las anomalías en este aspecto tienen como consecuencia directa la reabsorción de uno de los componentes. Los dobletes son formas inestables y después de un número variable de divisiones reversionan a la forma de individuos aislados.

**"ESTUDIO DE LA GERMINACION EN DOS ESPECIES DEL GENERO ERODIUM".** (Germination study in two species of Erodium genus). Johnston, M.; Olivares, A. y Fernández, G. Lab. Fisiol. Veg., Fac. de Cs. Agr. y Fores., Univ. de Chile.

La época e intensidad de uso de la pradera natural de terminará la producción y conservación de las semillas en el suelo para asegurar la resiembra. Las especies del género Erodium son las primeras que emergen y las más persistentes frente a stress, sin embargo, en pruebas de laboratorio tienen una capacidad germinativa muy variable. Por ello es necesario conocer el grado de dormancia de estas especies de la pradera anual mediterránea.

Durante 3 temporadas se cosecharon las unidades dispersivas de Erodium moschatum y E. botrys. Se realizaron pruebas de germinación a 15°C en cápsulas Petri, con papel filtro y agua, en incubador, empleando diseminulas completas y semillas escarificadas. Se midió germinación diaria para determinar la cinética y tasa de germinación y calcular algunos índices.

Las diseminulas de E. moschatum presentaron baja capacidad germinativa en las cosechas de 1985 y 1988 (5 y 1% respectivamente) y una alta germinación en la cosecha de 1986 (74%), en cambio con semillas escarificadas la capacidad de todas sube a alrededor del 90%. La germinación de E. botrys cosecha 1988 es también baja (7%) y mejora notablemente al escarificar la semilla (89%). En semillas escarificadas de ambas especies las tasas de germinación máximas se alcanzan rápidamente difiriendo sólo en su magnitud (inferior para E. botrys).

Estos resultados indican la existencia de una dormancia tegumentaria cuya magnitud depende de la especie y de la época de formación. Se discuten estos resultados en relación al establecimiento de estas especies en el campo y a su potencial de resiembra.

Proyecto DTI A-2409-8834, U. de Chile

**MODIFICACION DE LA COMPOSICION EN ACIDOS GRASOS DE LOS FOSFOLIPIDOS DE MEMBRANA DE HEPATOCITOS EN CULTIVO PRIMARIO CON ACIDOS GRASOS N-3 Y N-6.** (Modification of fatty acid composition of membrane phospholipids in cultured hepatocytes with n-3 and n-6 fatty acids). Jorquera, J. y Kawada, M.E. y Vargas, L. Fac. Cien. Biol., y Fac. de Medicina. P.U. Católica de Chile.

El consumo de ácidos grasos de la serie n-3, en los cuales son ricos los aceites de origen marino, ha sido correlacionado con una baja en el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Inicialmente, este efecto fue atribuido a un aparente descenso del colesterol plasmático asociado al consumo de estos ácidos grasos. Sin embargo, actualmente se sabe que el efecto protector puede llevarse a efecto sin cambios aparentes en los niveles plasmáticos de lípidos. Estas observaciones y el hecho de que los ácidos de las series n-3 y n-6 producen eicosanoides diferentes, con acción biológica que es, en algunos casos, contrapuesta, hacen pensar que los efectos biológicos de los ácidos grasos n-3 podrían encontrarse a nivel de regulación metabólica.

En este contexto, nos ha interesado estudiar si un aumento de ácidos n-3 en membranas pudiera tener consecuencias en mecanismos de transducción de señales. Con este objetivo hemos determinado, en hepatocitos en cultivo primario, las condiciones para cambiar la composición de los fosfolípidos de membranas. Los resultados obtenidos muestran que los hepatocitos en cultivo primario cambian rápidamente la composición de sus fosfolípidos al suplementar el medio con ácidos grasos de la serie n-3 o n-6 unidos a albúmina y que es posible obtener hepatocitos con prácticamente un 50% de sus ácidos grasos n-3 o n-6 manteniéndose relativamente constante las proporciones de saturados y monoinsaturados. (Financiado por Fondecyt 390/88; 250/88 y PNUD CHI/88/017).

ESTUDIO ULTRASTRUCTURAL Y CITOQUIMICO DE LAS VACUOLAS DE TROFOZOITOS DE *Giardia lamblia* (Ultrastructural and citochemical studies of the *Giardia lamblia* trophozoites vacuoles). Kattenbach, W.M., De Carvalho, T.U., Pimenta, P.F.P., Pinto da Silva, P. and De Souza, W. - Laboratório de Microscopia Eletrônica, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ, Instituto de Biologia, UERJ and National Cancer Institute, USA.

*Giardia lamblia* cysts and trophozoites present membrane bounded vacuoles subjacent to the plasma membrane. Their function has been discussed by several authors and the possibility that they would be endocytic, exocytic and lysosomal vacuoles has been considered. *Giardia* trophozoites (Portland 1 strain) cultivated in TYI-S-33 medium collected in their log phase of growth, fixed or not in GA 2,5% solutions and submitted to the followings approaches: 1) Treated to conventional freeze-fracture and fracture-flip; 2) incubated in solutions containing acridine orange or CeCl<sub>3</sub> and Na-β-glicerophosphate for identification of acidic compartments by light and electron microscopy; 3) incubated in solutions containing albumin-gold and peroxidase-gold for observation of the processes of fluid phase and receptor-mediated endocytosis. Observation of the membrane fracture faces showed a greater density of intramembranous particles on the P than on the E face. Some undulations on the trophozoites surface seem to correspond to the vacuoles suggesting the endocytosis processes. The observation of trophozoites treated with acridine orange revealed a bright and orange fluorescence in sites corresponding to the vacuoles. The same vacuoles presented a dark reaction product indicative of acid phosphatase activity and exhibited colloidal gold particles associated to albumin and peroxidase. Supported by: CNPq, FINEP and CEPG-UFRJ.

RECEPTOR DE EGF (R-EGF) EN CEREBRO DE RATA DURANTE EL DESARROLLO POST-NATAL. (Rat brain EGF receptors during postnatal development). Krauss R.Y., Faúndez V.G. y González A. Depto. Biología Celular y Depto. Inmunología Clínica y Reumatología P. Universidad Católica de Chile.

El factor de crecimiento epidermal (EGF) ejerce efectos tróficos y proliferativos en diversos tejidos a través de la interacción con un receptor específico. Recientemente se ha descrito la presencia de EGF en el Sistema Nervioso Central de rata y humano, sugiriendo que este tejido altamente diferenciado podría poseer R-EGF.

En este trabajo se identificó mediante inmunoprecipitación, inmunoblot, inmunocitoquímica y cromatografía de afinidad una proteína con características de rEGF en distintas áreas del encéfalo de la rata. Utilizando un anticuerpo policlonal contra R-EGF purificado por cromatografía de afinidad de hígado de rata, se pesquizó una proteína de 190 kDa en sinaptosomas de corteza, hipocampo y cerebelo, que está presente desde el primer día de desarrollo y se mantiene en niveles constantes al menos hasta los 30 días. Esta proteína posee la capacidad de ligarse a EGF unido a una columna de afinidad. La inmunocitoquímica en los días 1, 15 y 30 días postnatales demostró inmunoreactividad en neuronas piramidales de corteza e hipocampo así como en células de Purkinje. Esta reacción es específica ya que se elimina al co-incubar los cortes con R-EGF purificado de hígado de rata. (Financiado por FONDECYT #0249-88; V. Faúndez becario Fundación Andes).

INTERACCION DE ALCOHOLES ALIFATICOS CON EL TRANSPORTADOR DE GLUCOSA DE ERITROCITOS HUMANOS. (Interaction of aliphatic alcohols with the glucose carrier of human erythrocytes). Krunka R.H. y Devés, R. Research Center, Agriculture Canada, London, Canada y Depto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Es común que moléculas hidrofóbicas de estructuras variadas inhiben el funcionamiento de transportadores de membrana. No se ha establecido si la inhibición es el resultado de la interacción directa con la proteína transportadora o si se debe a la perturbación su entorno (la bicapa lipídica).

En este trabajo, se estudia el mecanismo de inhibición de una serie de alcoholes alifáticos de cadena recta sobre el transportador de glucosa de eritrocitos humanos. El transportador es inhibido por etanol, butanol, hexanol, octanol y decanol. La potencia aumenta con la liposolubilidad del alcohol. Participan en la inhibición al menos dos moléculas de alcohol por transportador, suponiendo una alta cooperatividad en la unión. Con respecto a la interacción con el sustrato, etanol, butanol y hexanol son competitivos, mientras que octanol muestra una cinética mixta y decanol es prácticamente no competitivo. Los primeros tres miembros de la serie (C2-C6) interfiere también con la unión del inhibidor floretin, que se liga al transportador competitivamente desde el compartimento externo. Por último, los alcoholes pequeños aumentan la velocidad de inactivación del transportador por pCMBS (tal como lo hace floretin), pero los de mayor tamaño (C8-C10) no la afectan. Estos resultados sugieren que etanol, butanol y hexanol se unen al mismo sitio de floretin y glucosa; octanol y decanol parecen unirse a otra región.

Financiado parcialmente por proyectos Universidad de Chile (B-2674) y FONDECYT (156).

COMPARTIMENTOS ENDOSOMICOS Y PENETRACION DE VIRUS IPN EN CELULAS CHSE-214. (Endosomic compartments and IPN virus penetration in CHSE-214 cells). Kuznar, J. Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

Los mecanismos de entrada del virus de la necrosis pancreática infecciosa (virus IPN) a la célula, son desconocidos.

Este trabajo tiene por objeto analizar las vías de internalización del virus IPN, y su relación con los mecanismos endocíticos de la célula hospedadora. Se caracterizó la actividad endocítica de las células CHSE-214 mediante la incorporación de trazadores convencionales. A nivel ultraestructural se observa la conformación de un complejo endosómico con una polaridad espacial claramente definida.

En los primeros 5 min. los marcadores son incorporados a una red endomembranosa de túbulos y vacuolas interconectados a nivel periférico. Posteriormente el tráfico está dirigido, a través de endosomas, hacia áreas ubicadas en torno al centrosoma y próximas al núcleo. Al cabo de 30 min. los trazadores se detectan en los lisosomas. Respecto a la internalización del virus, sólo fue posible detectar relaciones estrechas con compartimentos endosómicos periféricos. Es más, la proporción de virus internalizado es muy baja frente a la de los adsorbidos.

Aparentemente, la internalización del virus IPN se resuelve a nivel de compartimentos endosómicos periféricos.

**BIOLOGIA TERMICA COMPARADA DE DOS ESPECIES DE LAGARTOS DEL GENERO PRISTIDACTYLUS (Comparative thermal biology of two *Pristidactylus* lizards).** LARRA, A. Depto. de Cs. Ecológicas, Fac. Ciencias, Univ. de Chile. (Patrocinio: M. ROSENMANN)

Los reptiles poseen baja capacidad de generar calor, existiendo mecanismos que permiten adquirir y mantener una adecuada temperatura corporal ( $T_b$ ), la que depende al igual que los mecanismos, del habitat usado.

Los objetivos del trabajo son determinar el efecto del ambiente en la frecuencia de uso y preferencias térmicas de sustrato ( $T_s$ ), en dos especies congénicas de diferentes ambientes, *P. volcanensis* (matorral) y *P. torquatus* (bosques de *Nothofagus*), y establecer si en este género  $T_b$  puede relacionarse a factores filogenéticos. Se espera que  $T_b$  y  $T_s$  sean mayores en *P. volcanensis*.

Los animales fueron colocados en terrarios individualmente. Cada hora se anotó  $T_b$  y sustrato utilizado.  $T_s$  fue medido una vez al día.

Ambas especies presentan diferencias en  $T_b$  y  $T_s$  ( $P < 0.001$ ). *P. torquatus* tiene euritermia corporal, mayor  $T_b$  y utiliza sustratos más cálidos.

Los resultados difieren de lo esperado. Presuntamente *P. torquatus* se encontraría bajo fuertes restricciones en su ambiente, reflejándose en las preferencias térmicas y la euritermia corporal. Apesar de las diferencias en  $T_b$ , existe un componente filogenético que los separa de otros Iguánidos.

Financiado parcialmente por: DTI N2594

**EFFECTO DE *Aegla abtao* SOBRE LA POBLACION DE *Diplodon chilensis* EN EL LAGO PANGUIPULLI.** (Effect of *Aegla abtao* upon population of *Diplodon chilensis* in Panguipulli Lake). LARA, G. Depto. CC.MN.-Biología. Pontificia Universidad Católica de Chile-Temuco. (Patrocinio S. Peredo).

En aguas someras del lago Panguipulli la población de *Diplodon chilensis* (Gray, 1828) se caracteriza por formar grupos en distintos sustratos, siendo su abundancia significativamente mayor en sustrato areno-pedregoso (AP) que arenoso (A). Observaciones estivales realizadas en el área de estudio, indicaron que *Aegla abtao* (Schmitt, 1942) es uno de los depredadores de la población de *D. chilensis*, situación que llevó a plantearse la interrogante ¿qué efecto ejerce la depredación de *A. abtao* sobre el patrón de distribución espacial y de abundancia de estas almejas en el lago Panguipulli?

Para encontrar respuesta a esta pregunta, en época de verano (enero-febrero 1987), se realizaron experimentos de campo en sustratos AP y A excluyendo 100 almejas de los depredadores en cajas de 100 x 100 x 15 cm por un período de 25 días.

Los resultados indicaron que, en ambos sustratos las almejas adoptaron una distribución espacial ategada (de una uniforme original) dentro de los primeros 5 días de iniciado el experimento la que se mantuvo indefinidamente en el tiempo. Respecto a la abundancia de almejas, se determinó que el efecto de *A. abtao* es mayor en sustrato A que AP registrándose en el transcurso de 25 días una mortalidad por depredación de 12 y 6 ind/m<sup>2</sup> respectivamente. Al comparar ambos sustratos en época de verano e invierno, se encontró que en verano la mortalidad por depredación es mayor en sustrato A que AP, a diferencia de lo ocurrido en época de invierno. Se discuten estos resultados.

Financiado: Proyecto 2.87.5. CIPUC-Temuco

**INFLUENCIAS NERVIOSAS EN EL DESARROLLO FOLICULAR Y SECRECIÓN DE ESTEROIDES OVARIOS \*.** (Neural Influences on follicular development and ovarian steroid secretion). LARA HE y OJEDA SR. Dept. Bioquímica y Biol. Molecular Fac. Cs. Químicas y Farmacéuticas. U. de Chile, y Div. of Neurosciences Oregon Regional Primate Res. Ctr. Beaverton, USA.

Muchas evidencias sugieren que la función ovárica es modulada por la actividad de nervios simpáticos ováricos. En este trabajo hemos utilizado 2 procedimientos inmunológicos para eliminar los nervios adrenérgicos: a) Administración de anticuerpos contra el factor de crecimiento nervioso (NGFAB) a ratas neonatales y b) tratamiento crónico con guanetidina (GD) durante la etapa infantil-juvenil del desarrollo.

NGFAB eliminó totalmente los nervios simpáticos y parcialmente los sensoriales del ovario. GD solamente destruyó los nervios simpáticos. Ambos tratamientos no afectaron las neuronas hipotalámicas. NGFAB al igual que GD detuvieron el desarrollo folicular y disminuyeron la secreción de estradiol del ovario. A diferencia de GD, el tratamiento con NGFAB produjo un aumento de los folículos preantrales. Los tratamientos con GD y NGFAB retardan la primera ovulación pero sólo NGFAB modificó la capacidad reproductiva. Las diferencias obtenidas con los 2 tratamientos se pueden explicar por el efecto diferencial sobre las neuronas sensoriales del ovario.

Estos resultados dan fuertes evidencias para postular que la innervación simpática facilita el desarrollo folicular y la actividad secretora del ovario. Ya que además hemos encontrado que la secreción de norepinefrina (NE) es modulada localmente por gonadotropinas, es posible que estas hormonas no sólo sensibilicen el ovario para la acción de NE, sino que además modulen el flujo de información nerviosa por interacciones directas y complementarias para el funcionamiento ovárico.

\* Financiado por NIH: HD24870, RR00163 y NSF: BNS8318017 a SR0 y Rockefeller Foundation; TWAS: BC 88-109 y DTI 2750-8712 a HEL.

**EL EFECTO DEL pH EN EL CANAL DE K<sup>+</sup> ACTIVADO POR CALCIO PUEDE SER EXPLICADO POR UN MODELO DE COMPETENCIA DE LOS PROTONES POR LOS SITIOS DE LIGAMEN DE CALCIO DEL CANAL.** (The effect of pH in the Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channel can be explained by a competitive model of the protons for the calcium binding sites of the channel). LAURIDO, C., WOFF, D. \*Depto. de Química, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago. \*Depto. de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Centro de Estudios Científicos de Santiago.

Hemos estudiado el efecto del pH sobre el canal de K<sup>+</sup> activado por calcio presente en membranas de músculo esquelético de rata, incorporado en bicapas artificiales de fosfolípidos. En experimentos realizados a potencial constante (+30 mV) en los cuales se varió la concentración de calcio y el pH, se pudo observar lo siguiente:

- Los cambios de pH a concentración de calcio constante, modifican la cinética del canal sólo si estos se realizan en el lado sensible al calcio (intracelular).
- La acidificación a una concentración de calcio constante, induce una disminución de la probabilidad de encontrar el canal en el estado abierto ( $P_o$ ) a un potencial dado.
- El tiempo promedio en el estado abierto del canal ( $T_o$ ), es una función lineal de  $[Ca^{2+}]$  y el tiempo promedio en el estado cerrado ( $T_c$ ), es una función lineal de  $1/[Ca^{2+}]^2$ . Esto indica la presencia de dos estados abiertos y varios estados cerrados.
- Las curvas de  $T_o$  versus  $[Ca^{2+}]$  y  $T_c$  versus  $1/[Ca^{2+}]^2$  a diferentes pH muestran que al acidificar se produce una disminución de  $T_o$  y un aumento de  $T_c$ .
- En los límites de  $[Ca^{2+}] = 0$  para  $T_o$  y  $[Ca^{2+}] = \infty$  para  $T_c$ , estas curvas graficadas a diferentes pH, interceptan el eje vertical en un mismo punto. Este corresponde a los valores de las constantes cinéticas de apertura y cierre del canal, indicando que las transiciones abierto-cerrado del canal son independientes del pH. Estas observaciones son compatibles con un modelo de competencia de los protones por los sitios de ligamen de calcio de la proteína-canal. Esta competencia se realizaría de manera independiente del estado conformacional del canal. Los protones pueden competir por los sitios de calcio tanto en el estado abierto como cerrado del canal. Financiado por FONDECYT, Proyecto 0451/88, Fundación Tinker y Grant NIH 35981.

**RECEPTORES PARA IGF-I EN GLANDULA MAMARIA DE RATA (IGF-I receptors in rat mammary gland). \***

Lavandero, S., \*\*, Santibáñez, J.F., Ocaranza, M.P., Sepag-Hagar, M.  
 Depto. Bioquímica y Biología Molecular-Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas-Universidad de Chile

Varios factores de crecimiento de distinto origen, capacidad funcional y mecanismo de acción, podrían participar en la regulación de la diferenciación y proliferación de la glándula mamaria. El factor de crecimiento análogo a la insulina de tipo I (IGF-I), un polipéptido relacionado estructural y funcionalmente con la insulina, es capaz de ejercer una serie de acciones sobre el tejido mamario. Por otra parte, se ha señalado que este factor mediaría la acción galactopoyética de la hormona de crecimiento en rumiantes.

En este trabajo evaluamos y caracterizamos la capacidad receptora de la glándula mamaria para el IGF-I durante el ciclo lactogénico, utilizando membranas purificadas de glándula mamaria y el IGF-I radiomarcado con yodo-125. Los resultados mostraron que la unión de IGF-I es dependiente del tiempo y la temperatura, alcanzando un máximo a las dos horas de incubación y manteniéndose en el equilibrio por 16 horas.

La disociación del IGF-I desde su receptor, a 4°C, fue relativamente rápida. Estos sitios son específicos para IGF-I puesto que una concentración de 20ng/ml produjo un 50% de desplazamiento, en cambio la insulina requirió de una concentración 10 veces superior. Otros ligandos (Prolactina, EGF, etc.) inhibieron sólo un 10 a 20% la unión específica, revelando el análisis de Scatchard la existencia de sitios de alta y baja afinidad. El estudio de los receptores de alta afinidad para IGF-I a lo largo del ciclo lactogénico, mostró un claro predominio de ellos en la preñez temprana.

Se concluye que la glándula mamaria posee capacidad receptora específica para este factor de crecimiento, el cual intervendría funcionalmente en el proceso de desarrollo del tejido mamario.

\* Financiado por Proyectos FONDECYT 88-0872 y DII-Universidad de Chile. B-2116-8844.

\*\* Becado de la Fundación Andes.

PROPORCIÓN SEXUAL Y EDAD MATERNA EN UNA POBLACION CHILENA DURANTE UN PERIODO DE LA COLONIA (1700-1800). (Sex ratio and maternal age in a Chilean population during a colonial period (1700-1800)). Lazo, B., Figueroa, H., Campusano, C. Departamento de Biología, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

Se estudia la proporción sexual (sex-ratio) de recién nacidos según la edad de la madre en una población de Valparaíso del siglo XVIII.

La información proviene de libros de matrimonios y de bautismos de las parroquias de Puchuncaví y Quillota entre 1700 y 1800. Los datos corresponden a la totalidad registrada en dichos libros durante el lapso señalado. De estos libros se obtuvo datos de edad materna y del número de hijos de cada madre según el orden de nacimiento, el sexo y el año a partir de la edad materna. La edad materna se clasificó en grupos quinquenales, salvo el primer grupo (menos de 20 años) y el último (40 y más años). La proporción sexual se midió por la relación entre el número de hombres por cada 100 mujeres y el sex-ratio por el cociente del número de mujeres por el número total de nacimientos.

La proporción sexual promedio obtenida es de 106 hombres por cada 100 mujeres, lo cual es muy próximo a los valores actuales (105:100). En el grupo de 40 y más años se observa una fuerte distorsión en favor del sexo femenino (92:100). Datos censales chilenos actuales de los últimos 30 años muestran una distorsión en el mismo sentido. Datos experimentales en hamster señalan que junto con la disminución de la fertilidad con el aumento de la edad materna, hay menor número de fetos masculinos.

Tentativamente podría decirse que habría algún factor hereditario relacionado con la sexualidad, actuando con mayor eficacia en contra del sexo masculino con el aumento de la edad materna.

RELACIONES ELECTROFISIOLÓGICAS ENTRE EL COLICULO SUPERIOR (CS) Y NUCLEO ROJO (NR) EN EL GATO. Electro-physiological relationships between Superior Colliculus (S.C.) and Red Nucleus (R.N.) in the cat.

Leiva, J.

Departamento de Pre-Clinicas, División Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La estimulación eléctrica del CS provoca giramiento de la cabeza en el gato crónicamente implantado. Lo mismo ocurre cuando se estimula el NR. Mediante técnicas neurohistológicas, hemos demostrado relaciones entre CS y NR. Este trabajo tiene como propósito demostrar relaciones funcionales entre ambas estructuras cefalogiras.

Técnicas electrofisiológicas, ejecutadas en preparaciones agudas en 10 gatos, han permitido registrar simultáneamente células: desde la región Parvo-celular de ambos NR. Electrodo de NiCr, instalados en las capas más profundas del CS, entregaron pulsos de estimulación entre 10 y 400 uA de intensidad, .03 a 1 ms de duración, 1 a 600 p/s. De 40 células registradas, 9 : 22.5% modificaron su actividad con estimulación del CS, 6 de ellas ipsilaterales y 3 contralaterales. Una de éstas, mostró además un significativo grado de correlación con los movimientos oculares horizontales. Las latencias fueron cortas, entre 0.6 y 5 ms. Demostrándose fatiga sináptica, sugiriendo conexión sináptica para la vía CS, NR. Estos datos describen una significativa interacción funcional para ambas estructuras, en especial sobre la región Parvo-celular del NR. Se discute la participación de esta nueva vía, en las conductas de orientación surgidas con la intervención de ambas estructuras.

Proyecto 89 - 1078. Financiado por FONDECYT.

COMPORTAMIENTO "IN VITRO" DE PAPILAS DENTARIAS DE CONEJO EN PRESENCIA DE ECTODERMA DE CODORNIZ (*Oryctolagus cuniculus* y *Coturnix c. japonica*). (Behavior of dental tissues from rabbit in heterospecific association). Lemus, D., Fuenzalida, M., Illanes, J., Lemus, R. y Pacheco A. Lab. Embriol. Exp., Depto. Morf. Exp., Escuela de Medicina, Univ. de Chile.

La odontogénesis se encuentra mediada por una secuencia de interacciones inductivas; está demostrado que la papila dentaria induce al epitelio adyacente, incluso ectópico y heterólogo a formar un órgano del esmalte, lo que conduce a la formación dentaria. En este trabajo asociamos papilas mesenquimáticas de gérmenes dentarios de conejo con ectoderma ectópico-heterólogo para verificar su capacidad inductora odontogénica. Utilizamos embriones de conejo con 15 ds. de desarrollo, de los que se aisló papilas dentarias provenientes de gérmenes en etapa de copa, las que se asociaron con ectoderma del flanco de embriones de codorniz de 72 hs. de desarrollo, cultivándose por 2 ds en medio semisólido y 6 ds "in ovo"; los cultivos se fijaron y estudiaron histológicamente. Los resultados mostraron que los combinados diferenciaron dientes con secreción de matrices extracelulares (dentina). Estas observaciones permiten concluir que la papila dentaria embrionaria de conejo (15 ds) presenta potencial odontogénico, siendo capaz de actuar sobre un epitelio ectópico y heterólogo, induciendo diferenciación dentaria. Estos resultados nos llevan a determinar la etapa del desarrollo en que ésta pierde su potencial inductor.

Proyecto B 2681-8822 D.T.I.

GERMINACION DE SEMILLAS DE Lithrea caustica (Anacardiaceae) CONSUMIDAS POR Dusicyon griseus EN EL MATORRAL DE CHILE CENTRAL (Germination of Lithrea caustica seeds (Anacardiaceae) consumed by Dusicyon griseus in the central Chilean matorral.) León, P.M., Arroyo, M., Kalin, M.T. Lab. Sist. y Ecol. Vegetal, Fac. de Ciencias Univ. de Chile.

La dieta de Dusicyon griseus en el matorral de Chile Central, está constituida principalmente por roedores, sin embargo entre primavera y otoño consume gran cantidad de frutos. Lithrea caustica es una de las especies vegetales más comunes del matorral de Chile y D. griseus podría ser un importante agente dispersante de sus semillas. En este trabajo analizamos el efecto que tendría el paso de los frutos por el tubo digestivo de D. griseus, sobre la capacidad germinativa de las semillas.

En febrero de 1989 se colectaron fecas frescas de D. griseus en el Parque Nacional Río Clarillo. Se determinaron y cuantificaron los tipos de semillas presentes en las fecas. En laboratorio, se comparó la capacidad de germinación de semillas de frutos obtenidas de las fecas, con semillas de frutos maduros colectados de árboles en la misma época. En las fecas se encontraron principalmente frutos de Lithrea caustica, y en menor cantidad frutos de Cryptocarya alba y semillas de Aristotelia chilensis. Los porcentajes de germinación de semillas de litre obtenidas de fecas de D. griseus fueron menores que los obtenidos de semillas colectadas del árbol.

El menor porcentaje de germinación de las semillas de frutos consumidos por D. griseus, podría ser compensado por la gran cantidad de semillas que transporta en el estómago y grandes distancias que se desplaza. FO.88-1177

PREVENCIÓN DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS TRANSFUSIONAL MEDIANTE COMPUESTOS FENÓLICOS ANTIOXIDANTES. (Prevention of transfusion-induced Chagas' disease by antioxidant phenolic compounds). Letelier M.E., Rodríguez E., Lorca M. and Morello A. Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Casilla 70086 - Santiago 7.

Miles de personas contraen anualmente la enfermedad de Chagas por contaminación transfusional. El Cristal Violeta puede eliminar los parásitos de la sangre almacenada en aproximadamente 24 horas. Desafortunadamente su uso es resistido por pacientes y médicos debido a que tiñe los tejidos de los pacientes transfundidos. Recientemente, nosotros hemos demostrado que varios antioxidantes fenólicos que se usan como aditivos de alimentos de consumo humano inhiben la respiración y el crecimiento de cultivos de T. cruzi.

En este trabajo se estudió el efecto de 13 antioxidantes, la mayoría de ellos aditivos de alimentos, contra epimas tigotes de cultivo y formas metacíclicas. Se realizaron pruebas de hemólisis y se comparó su grado de toxicidad mediante observaciones microscópicas y la inhibición de la respiración. Estos estudios mostraron al BHT (2,6-di-terbutil-p-cresol) como la droga más efectiva que no producía hemólisis. Por ello, sangre humana contaminada experimentalmente con 2000 tripomastigotes/ml se trató con varias concentraciones de BHT y se mantuvo durante 24 horas a 4° C. La esterilización de la sangre se comprobó, inoculando las muestras a ratones Balb/C. BHT esterilizó la sangre desde la concentración  $5 \times 10^{-3}$  M. Ninguno de los ratones inoculados hizo parasitemia (micro hematocrito) y sus pruebas serológicas de inmunofluorescencia indirecta e inmunoperoxidasa fueron negativas. Estos estudios podrían ser la base para disponer de drogas capaces de esterilizar sangre contaminada con T. cruzi.

Financiado por FONDECYT-Chile, OEA y DTI-1854. Universidad de Chile.

CAMBIO DEL PATRÓN DE CONDENSACION DE LA CROMATINA PROVOCADO POR NUCLEÓTIDOS QUE INDUCEN HIPOMETILACION DEL DNA. (Chromatin condensation changes provoked by nucleotides that induce DNA hypomethylation). Leyton, C., Merquidich, D. and Sans, J. Dpto. Biol. Cel. y Gen. Fac. Medicina U. de Chile.

El inicio de la mitosis se evidencia citológicamente por un incremento importante de la condensación de la cromatina. En trabajos previos, hemos comprobado en células meristemáticas de raíces de Allium cepa L. que la administración de 5-AzaC (ribonucleótido análogo de la citidina) durante el período S, inhibe la condensación de los cromosomas en la mitosis.

En el presente trabajo, se investiga si esta inhibición de la condensación es inducida sólo por nucleótidos que provocan hipometilación del DNA. Con este fin, se estudia el efecto *in vivo* de 5-AzaC, 5d-AzaC y BrdUrd, sobre la condensación de los cromosomas durante la ana y telofase. Además, se correlacionan estos cambios con variaciones en la incorporación de grupos metilo H3 al DNA. Los resultados muestran que tratamientos con 5-AzaC y 5d-AzaC provocan luego de 6 horas un incremento transiente en la frecuencia de células en ana y telofase que presentan una condensación alterada de sus cromosomas, alcanzándose un máximo a las 24 hrs. Para posteriormente disminuir a las 36 hrs de tratamiento a una frecuencia similar al control. En cambio, tratamientos con BrdUrd no alteran el patrón de condensación de los cromosomas. Las células tratadas con 5-AzaC y 5d-AzaC presentan una menor incorporación de grupos metilo en el DNA satélite. Estos resultados sugieren que la condensación de la cromatina estaría de alguna manera correlacionada con un cambio en el grado de metilación del DNA.

Proyecto FONDECYT 89/812.

ROL DE PORINAS EN LA PERMEABILIDAD A ANTIBIÓTICOS  $\beta$ -LACTÁMICOS EN LA MEMBRANA EXTERNA DE E. COLI. (Role of the porins on the  $\beta$ -lactam antibiotics permeability of the E. coli outer membrane). Lira, P., Lira, J., Cobarrubias, M. y Vetterlein, A. Unidad de Microbiología y Genética Molecular. Pontificia Universidad Católica de Chile. Casilla 114-D. Santiago. Chile.

En bacterias gram negativas, se ha descrito la presencia de diversas proteínas en su membrana externa. Entre éstas, están las porinas, proteínas que forman poros, que permiten la libre difusión de sustancias hidrofílicas entre el espacio periplásmico y el extra celular. Estos poros permiten el paso de sustancias de peso molecular máximo de 600 Da. Se ha descrito que las porinas son puntos de entrada para ciertos fagos y colicinas respectivamente, además, los antibióticos  $\beta$ -lactámicos pueden pasar por los poros.

En E. coli, se han descrito dos porinas, OmpC y OmpF, con pesos moleculares de 34 y 35 kDa, respectivamente. Los genes de estas proteínas han sido clonados, y de su secuencia aminoacídica, se ha establecido una importante homología entre ellas.

Otros autores han descrito el uso de carbenicilina, un antibiótico  $\beta$ -lactámico típico, como agente selector para aislar mutantes del gen ompF en E. coli, que no expresan la proteína y que son resistentes a este antibiótico. Este hecho ha permitido relacionar la entrada de estos antibióticos con las porinas.

Con el fin de demostrar claramente esto, se ha escogido una cepa resistente a carbenicilina, que no expresa OmpF, pero que permite su expresión al ser transformada con un plásmido que contenga el gen ompF.

Para la cepa E. coli W7NR, con alta resistencia al antibiótico  $\beta$ -lactámico carbenicilina (más de 800  $\mu$ g/ml) y a otros  $\beta$ -lactámicos, se ha determinado que expresa solamente OmpC. Al transformar esta cepa con el gen ompF de E. coli, se observa una brusca caída en la resistencia a carbenicilina (a 50  $\mu$ g/ml), lo que ocurre en forma similar para otros  $\beta$ -lactámicos. Al transformar esta cepa con los genes ompC, o phoE de E. coli, o con el gen ompC de S. typhi, no se observa un cambio en la alta resistencia a carbenicilina u otros antibióticos  $\beta$ -lactámicos ensayados.

Con estos resultados, se puede postular, que en la cepa E. coli W7NR, la porina OmpF es la vía de entrada para los antibióticos  $\beta$ -lactámicos.

Financiado por Proyecto FONDECYT 2026/87.

**POLIMORFISMO GENÉTICO DE ACETILACION DE ISONIAZIDA EN PACIENTES TUBERCULOSOS CHILENOS.** Ligueros, M., Cruz-Coke, R., Neira, S., Saavedra, C., Kramer, V., Prieto, Juan C., Galman, M., Saavedra, A., Pescio, S. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

El progreso de la medicina ha logrado reducir la prevalencia de la tuberculosis pulmonar a tasas bajas, concentrándose los pacientes en los niveles económico sociales inferiores de la población chilena. Hemos estudiado el polimorfismo genético de acetilación de la isoniazida en 47 pacientes con tuberculosis pulmonar tratados con el esquema TA 81 (4 drogas) en el Hospital San José, de Santiago, que iniciaron tratamiento entre Agosto de 1987 y Diciembre de 1988. Todos los casos fueron controlados y no se reportaron fallecimientos. Se determinó los índices de inactivación de la isoniazida mediante muestras de orina obtenidas tras la administración de 10 mg/kg de isoniazida. Se encontró 18 pacientes acetiladores lentos y 29 acetiladores rápidos. La frecuencia del gen mutante lento fue estimada en  $q = 0.612$ , cifra intermedia entre las frecuencias de aborígenes americanos (0.460) y europeos occidentales (0.730). La distribución de los dos genotipos, lentos y rápidos en relación al sexo, grupo sanguíneo ABO, ancestro, apellidos, nivel económico social, desnutrición, alcoholismo y tabaquismo fue similar, no existiendo asociación significativa entre estos factores. El grado de hibridización étnica de esta muestra es de 55% de genes europeos y 45% de genes amerindios, lo que concuerda con el bajo nivel económico social, asociado a una estratificación étnica en los pacientes tuberculosos chilenos.

**EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HORMONAS TIROIDEAS Y DEL PROPILTIOURACILO (PTU) EN SISTEMAS BIOLÓGICOS.** (Evaluation of the antioxidant capacity of thyroid hormones and PTU in biological systems). Lissi, E.A., Faure, M., Videla, L.A. Depto. de Química, Fac. de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile y Unidad de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El efecto calorigénico de las hormonas tiroideas aumenta, en el estado hipertiroideo, el estrés oxidativo del hígado. Este fenómeno estaría mediado por un aumento de la capacidad oxidativa de los microsomas hepáticos y por una disminución de las defensas antioxidantes. En estas condiciones  $T_3$  y  $T_4$  podrían ejercer, dadas sus estructuras fenólicas, una acción antioxidante directa. En el presente trabajo se evalúa la capacidad antioxidante de  $T_3$  y  $T_4$  y de la droga anti-tiroidea PTU, en tres sistemas modelos que difieren substancialmente en los procesos que inician la liperoxidación: a) la autooxidación de homogenizado de cerebro de rata; b) la oxidación de membranas de eritrocitos iniciada por radicales peróxido derivados del azo-bis-amidino-propano, y c) la oxidación de membranas de eritrocitos inducida por radiación gamma. En los tres sistemas estudiados,  $T_3$  y  $T_4$  no mostraron efectos significativos a concentraciones fisiológicas. Sin embargo, ambos compuestos son capaces de actuar como efectivos antioxidantes a concentraciones micromolares. PTU inhibe eficientemente la oxidación de las membranas de eritrocitos a concentraciones del orden de 100  $\mu$ M. Su efecto en el homogenizado de cerebro sólo se evidencia a concentraciones milimolares.

**Agradecimientos:** Este proyecto ha sido financiado por DIT (B-1260), Fondecyt 987/89 y DICYT.

**ANTIGENOS HLA B40Cw3 EN INDIVIDUOS SEROPositIVOS Y SERONEGATIVOS PARA ENFERMEDAD DE CHAGAS.** (HLA B40Cw3 antigens in Chagas serologically positive and negative individuals). Llop, E., Rothhammer, F., Acuña, M. y Apt, W. Depto. Biología Celular y Genética y Depto. Medicina Experimental, Fac. Medicina, Universidad de Chile.

Trabajos previos han demostrado que existe una mayor frecuencia de los antígenos HLA B40Cw3 en individuos no cardiomiópatas en relación a cardiomiópatas chagásicos.

El presente estudio tiene por objeto realizar un análisis comparativo de frecuencias de los antígenos HLA antes señalados, en una muestra mayor y en individuos seronegativos. Para esto se estudiaron 144 individuos seropositivos (67 cardiomiópatas y 77 no cardiomiópatas) y 94 individuos seronegativos (32 cardiomiópatas y 62 no cardiomiópatas), residentes de la I y IV región.

Los resultados revelaron diferencias significativas entre cardiomiópatas y no cardiomiópatas chagásicos para la combinación de antígenos HLA B40Cw3. Esta combinación se encuentra ausente entre los cardiomiópatas y alcanza un 15% entre los no cardiomiópatas. En los individuos seronegativos no se encontraron diferencias significativas entre cardiomiópatas y no cardiomiópatas.

El riesgo relativo (RR) de los individuos seropositivos de desarrollar cardiomiopatía chagásica, en ausencia de la combinación HLA B40Cw3 fué de 25.76 ( $p=0.002$ ). Los resultados obtenidos corroboran la hipótesis de que la combinación de antígenos HLA B40Cw3 está relacionada con una menor susceptibilidad de desarrollar cardiomiopatía chagásica en pacientes chilenos. (Proy 801/86 FONDECYT; UNDP/WORLD/BANK/WHO special Program for Research and Training in Tropical Diseases).

**DINAMICA DE DESENSEMBLE IN VITRO DE MICROTUBULOS ENDOGENOS Y RECONSTITUIDOS** (In vitro depolymerization dynamics of endogenous and reconstituted microtubules) López L., Berón W., Bertini F., IHEM-CONICET, Fac. Cs. Médicas, Univ. Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

Recientemente hemos desarrollado un método que permite estudiar las características de desensamble de microtubulos endogenos (MTE) de cerebro de rata, que consiste en estabilizar los MTE con glicerol, sedimentarlos y luego resuspenderlos en un medio desestabilizante deficiente en glicerol. Los microtubulos reconstituidos (MTR) fueron procesados en forma similar a los MTE.

En este trabajo, comparamos las características de desensamble entre MTE y MTR por dos métodos: bioquímico y morfométrico.

Los resultados muestran que los MTE son más resistentes que los ensamblados in vitro ya que: 1- se despolimerizan más rápidamente, 2- el porcentaje de microtubulos remanentes después de la despolimerización, es significativamente mayor en los primeros. Además, ambos sistemas de microtubulos se comportan en forma similar en cuanto a que sus microtubulos se despolimerizan con una dinámica de tipo todo o nada, o sea permanecen inalterados o desaparecen totalmente.

Estos resultados, sugieren que los MTR perderían algún factor que intervendría en su estabilización, presente en los MTE.

**PROPIEDADES DE ABSORCIÓN ESPECTRAL DE LA LUZ EN ECOSISTEMAS ACUÁTICOS.** (Spectral light absorption properties of natural waters). Lövengreen, Ch. Instituto de Física, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. (Patrocinio: F. Ojeda).

La penetración de la luz en ecosistemas acuáticos es afectada por los procesos de absorción y dispersión que tienen lugar dentro del agua. Ambos procesos se producen debido al agua propiamente tal, a partículas suspendidas y a sustancias disueltas en ella. Estas componentes determinan las propiedades ópticas inherentes de las masas de agua.

Para obtener información respecto de estas propiedades del río Calle-Calle y del lago Villarrica, se midió con un espectrofotómetro sumergible la relación entre la irradiancia descendente a la profundidad  $z$ ,  $E_d(z, \lambda)$ , y aquella medida inmediatamente bajo la superficie,  $E_d(0, \lambda)$ , en diez bandas estrechas de longitudes de onda ( $\approx 15$ nm) distribuidas homogéneamente en el rango de luz fotosintéticamente activa (400-700nm). Paralelamente se determinaron en un espectrofotómetro los coeficientes de absorción de cada uno de los componentes (particulado  $\phi > 45 \mu\text{m}$  y gilvin) en función de  $\lambda$  a partir de muestras de agua extraídas durante la medición in situ.

Los espectros de transmisión calculados a partir de los coeficientes de absorción total se comparan con los correspondientes obtenidos in situ observándose una buena correlación entre los espectros mencionados para el río Calle-Calle. Para las aguas del lago Villarrica concuerda la distribución espectral, sin embargo las mediciones in situ entregan un porcentaje de sobrevivencia de luz siempre mayor a aquel que se calcula. Esto indica que existen cuerpos de agua para los que la irradiancia ascendente es despreciable (río Calle-Calle) y otros en los que aparentemente es necesario la consideración de este parámetro para la descripción detallada de las propiedades ópticas del mismo (Lago Villarrica).

**MODIFICACIONES EN EL CRECIMIENTO Y DIFERENCIACIÓN DE GONADAS FETALES DE HAMSTER DORADO IMPLANTADAS EN MACHOS ADULTOS EN DIFERENTES CONDICIONES EXPERIMENTALES.** (Modifications of the growth and differentiation of hamster fetal gonads grafted in adult males in different experimental conditions). Luna L., Arrau J., Bustos-Obragón E. y Cabello R. Depto. Biol. Cel. y Gerét., Fac. Med., U. de Chile; Cat. Biol. Reprod. y Desarr., Fac. Med., U. de Valparaíso y U. Metropolitana, Santiago.

En el presente trabajo se realizó un análisis citomorfológico de ovarios y testículos fetales (14-15 días post coito) de hamster dorados, implantados por 30 y 35 días bajo capsula renal o bajo albugínea de machos adultos normales, castrados, hemicastrados, criptorquídicos y hemicriptorquídicos. También se realizó la determinación de los niveles circulantes de FSH y testosterona.

Los resultados mostraron que cuando testículos u ovarios fetales se implantan bajo albugínea de testículos adultos normales ocurre una inhibición total de crecimiento y diferenciación de la gónada. Sin embargo cuando el trasplante se realiza bajo albugínea de testículo criptorquídico experimental, la inhibición es inversamente proporcional al daño en la línea germinal del testículo receptor. Lo cual hizo sospechar la presencia de un factor testicular con efecto local inhibitorio sobre la gónada fetal, el cual estaría ausente o disminuido en el testículo receptor criptorquídico, favoreciendo el desarrollo del trasplante.

Cuando el trasplante se realiza bajo capsula renal de adultos normales, castrados y hemicastrados hay un mejor desarrollo de las gónadas, encontrándose en los testículos, túbulos seminíferos con la línea germinal desarrollada hasta espermátidas elongadas. Pero es frecuente encontrar espermátidas anómalas. En los ovarios el desarrollo es similar al de individuos normales, encontrándose hasta folículos de De Graaf.

DIT: B 2685-8822 y Proyecto de Investigación 14/89 U. Valparaíso.

**MODULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE PROTEINA KINASA C IN VITRO POR ACIL-COENZIMOS A Y ACIL-CARNITINAS.** (Modulation of in vitro protein kinase C activity by acyl-coenzymes A and acyl-carnitines). Loyola, G., Hidalgo, P., Meszazo, D. Fac. Cien. Biol. y Fac. de Medicina, P. U. Católica de Chile.

La actividad de la proteína kinasa C (pkC: kinasa dependiente de fosfolípidos y calcio) purificada de cerebro y de hígado de rata es potenciada por acil-coenzimas A (Acil-CoAs) de cadena larga (BERC, 152:987-992, 1988). El mecanismo de esta activación parece explicarse por un aumento de la afinidad de la pkC por fosfolípidos. Bajo las mismas condiciones experimentales, las acil-carnitinas, moléculas que en la célula se encuentran en equilibrio con los acil-CoAs a través de las carnitina acil-CoA transferasas, inhiben a la enzima, disminuyendo su afinidad por fosfolípidos. Por otra parte, la adición de palmitoil-carnitina a plaquetas estimuladas con trombina o ésteres de forból resulta en una inhibición de la fosforilación de una proteína de 47 kD, reconocida como sustrato de la pkC.

Utilizando pkC purificada de cerebro de rata, se estudió la actividad de la enzima en presencia de concentraciones y razones fisiológicas de palmitoil-CoA y de palmitoil-carnitina. Los resultados muestran que la activación por acil-CoAs puede ser parcialmente revertida por la presencia de palmitoil-carnitina. A razón constante, y bajas concentraciones de ambos efectores predomina el efecto activador de acil-CoAs, mientras que a la misma razón y concentraciones mayores de ambos efectores predomina el efecto inhibitorio de la palmitoil-carnitina. Dado que las concentraciones a las cuales existen los mayores cambios de actividad están precisamente en el rango fisiológico, nuestros resultados sugieren que *in vivo* la actividad de la pkC podría estar determinada en parte por las razones y concentraciones de acil-CoAs y acil-carnitinas celulares. (Financiado por Fondecyt 390/88)

**GLUTATION PULMONAR Y HEPÁTICO EN DOS MODELOS EXPERIMENTALES DE INJURIA PULMONAR.** (Pulmonary and hepatic glutathione in two experimental models of lung injury). Maldonado, M., Borzone, G., Klaassen, R. Departamentos de Ciencias Fisiológicas y Anatomía Patológica, Universidad de Concepción (Patrocinio: E. Vivaldi).

La vitamina E modera la evolución de las lesiones pulmonares inducidas por sílice en ratas y hemos demostrado que los oxidantes derivados del Oxígeno podrían tener importancia en la patogenia de la silicosis experimental. Para bleomicina, se postula un daño oxidativo pulmonar, dado que la toxicidad es > al asociarla con oxigenoterapia y/o radioterapia. Con el fin de evaluar la importancia de los oxidantes en el proceso inflamatorio pulmonar inducido en ratas por sílice y por bleomicina, se midió, tanto en hígado como en pulmón, la concentración de glutatión reducido. A dos grupos de ratas administramos ya sea cristales de sílice o 1.5 U/Kg de bleomicina por vía intratraqueal. En el grupo con sílice obtuvimos una reacción inflamatoria pulmonar con predominio de PMN evidente a las 24 hrs., máxima al 3<sup>er</sup> y 4<sup>to</sup> día, y con predominio de mononucleares y granulomas al 8<sup>o</sup> día. En el grupo con bleomicina la reacción inflamatoria es leve a las 24 hrs., de intensidad creciente hasta el 8<sup>o</sup> día, y a base de polimorfonucleares, con destrucción de la arquitectura alveolar. El contenido de grupos SH libre en trozos de hígado y pulmón se midió a las 24 hrs. post sílice y 1,4 y 8 días post bleomicina. No se encontró variación en los niveles de glutatión hepático en ninguno de los dos modelos. El glutatión pulmonar 24 hrs. post sílice fue inferior en un 22% con respecto al del grupo control. El glutatión pulmonar en bleomicina también fue inferior al del grupo control pero sólo los valores a los 8 días fueron estadísticamente significativos.

Concluimos que a) sílice ni bleomicina modifican el glutatión hepático, b) la caída precoz del glutatión pulmonar en ratas con sílice apoya la participación de oxidantes y c) la caída del glutatión pulmonar con bleomicina es tardía y no guarda relación con alteraciones histológicas.

Proyecto FONDECYT 89-695

APIRASA Y REGULACION DE SU ACTIVIDAD DURANTE EL DESARROLLO DEL TUBERCULO DE *S. tuberosum*. (Apyrase and activity regulation during development of *S. tuberosum* tuber). Mancilla, M.; Del Villar, M. y Traverso-Cori, A. Depto. Biología y Biología Molecular. Fac. Cs. Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

La apirasa o ATP-difosfohidrolasa es una enzima ampliamente distribuida tanto en tejidos vegetales, animales como en bacterias. Sin embargo, no se ha logrado demostrar su función fisiológica, excepto en algunos tejidos animales e insectos succionadores de sangre.

El objetivo de este trabajo es estudiar los cambios de niveles de actividad apirásica durante el desarrollo del tubérculo para proponer una posible función en este período. Se observó una alta actividad ATPásica-ADPásica en el período inicial de la tuberización (49 días) la cual disminuyó en un 70% a los 57 días de desarrollo para volver a aumentar aproximadamente a los 100 días.

Se cuantificó la cantidad de apirasa en los extractos de papa mediante "inmunodot" y también se determinó la presencia de la proteína moduladora con el fin de aclarar si este aumento se debía a cambios en la masa y/o acción de la proteína moduladora. Se estableció que durante el período inicial hay un gran aumento en la masa de apirasa en presencia de la proteína activadora. A los 100 días el aumento observado es aparentemente la acción de la proteína activadora ya que el aumento de masa, en este período, es posterior al aumento de actividad. Electroforesis en geles de poliacrilamida en presencia de SDS corroboran los cambios de patrones proteicos durante el desarrollo. Se presentan además algunas características de la proteína activadora.

RECEPTORES DE EGF (R-EGF) EN CÉLULAS ZIMOGENAS GÁSTRICAS DE LA RATA Y EFECTOS DEL EGF SOBRE SU DIFERENCIACION POST-NATAL (EGF receptors in rat gastric zymogenic cells and effects of EGF on their post-natal differentiation). Manzano M., Juica E. y Koenig C. Fac. de Medicina y Fac. de Ciencias Biológicas. P.U.C.

El factor de crecimiento epidérmico (EGF) inhibe la secreción de ácido y de pepsinógeno y ejerce una acción trófica sobre la mucosa gástrica que ha sido analizada sólo en sus parámetros generales de crecimiento tisular. Datos previos, de nuestro laboratorio y de otros investigadores, sugieren la presencia de R-EGF en células parietales. En este trabajo se muestra mediante inmuno-precipitación que estos receptores también se expresarían en células zimógenas gástricas, disgregadas enzimáticamente de estómago de rata, aisladas en gradientes de Percoll y marcadas metabólicamente con <sup>35</sup>S-metionina.

Además se estudiaron los efectos de la administración intraperitoneal de EGF (0,5 ug/gr de peso/día) a ratas entre los 10-15 días post-natales, sobre la diferenciación glandular en la curvatura mayor del cuerpo gástrico. El marcador de células zimógenas (pepsinógeno) experimenta un incremento significativo por efecto del EGF, en cambio los marcadores de células parietales (K-NPPasa insensible a ouabaina y citocromo oxidasa) aumentan en forma menos marcada. Los resultados sugieren que el EGF podría promover preferencialmente la diferenciación de las células zimógenas y que su receptor estaría ya presente en las correspondientes células precursoras en esta etapa del desarrollo. (Financiado por FONDECYT #0249-88)

PRESENCIA EN PLACENTA BOVINA DE UNA PROTEINA SIMILAR A HORMONA UTEROTRÓFICA PLACENTARIA HUMANA. (Presence in bovine placenta of a protein like human Uterotrophic Placental Hormone). Maragaño, M., Beas, F., Boric, M.A., Iñiguez, C. y Muñoz, B. Instituto de Investigaciones Materno Infantil, (IDIMI). Facultad Medicina; Dpto. Cs. Biológicas Animales, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias; Dpto. Producción Animal, Fac. Cs. Agrarias y Forestales. Universidad de Chile. Proyecto FONDECYT 0183.

La Hormona Uterotrófica Placentaria (UTPH) es una proteína con características físico-químicas y biológicas propias, obtenida de placentas humanas de término (Beas y col. 1969).

Las acciones biológicas descritas para UTPH son: en útero: ejerce una acción uterotrófica; en glándula mamaria: inhibe el efecto producido por estrógeno y progesterona; en embrión preimplantacional: favorece su desarrollo, diferenciación e implantación.

Los niveles plasmáticos de UTPH en mujeres embarazadas presentan un valor máximo en los primeros días de gestación.

El objetivo del presente trabajo es demostrar, en bovinos, la presencia de una proteína similar a UTPH humana la cual podría permitir establecer un método de diagnóstico precoz de gestación en esta especie, mediante la medición de sus niveles circulantes.

Se procesaron placentas bovinas de término según la metodología empleada para UTPH humana, obteniéndose una fracción proteica que es excluida del G-75 y que al ser inyectada i.p. en ratonas preñadas Balb-c presenta una acción uterotrófica; además reacciona inmunológicamente frente al antisero UTPH humana con una banda única de precipitación (inmunodifusión doble).

Con esta fracción proteica bovina se inmunizó un conejo neozelandés obteniéndose un antisero que reconoce a UTPH humana y a la fracción proteica bovina.

Estos resultados permiten concluir que en la placenta del bovino existe una proteína similar a Hormona Uterotrófica Placentaria (UTPH) humana.

RELACION ENTRE LA COMPOSICION BIOQUIMICA Y FASES SEXUALES EN Calyptraea (Trochita) trochiformis. (Relationship between biochemical composition and sexual phases). Martínez, G. y Mettifojo, L. Depto. Biología Marina, Universidad del Norte, Sede Coquimbo, Casilla 177 Coquimbo.

La "chocha", Calyptraea (Trochita) trochiformis es un molusco gástrópodo perteneciente a la familia Calyptraeidae que se encuentra en Bahía La Herradura. Se conoce que es una especie hermafrodita protándrica que experimenta inversión sexual irreversible desde una fase masculina funcional a otra femenina. El objetivo de este trabajo es analizar la composición bioquímica de estos organismos en diferentes etapas de su vida sexual.

Las especies se obtienen desde la Bahía de Guayaquán, y secan con estufa a peso constante a 70° C. Proteínas se determinan por Lowry, carbohidratos por Dubois, lípidos con vainillina luego de extracción con cloroformo-metanol y cenizas por ignición en mufla a 500°C.

El análisis bioquímico de pie, glándula digestiva y gónada en diferentes fases sexuales muestra que, independiente de éstas, no cambia el contenido de materia orgánica, humedad, proteínas ni lípidos en pie y glándula digestiva mientras que carbohidratos presenta un valor más alto en hembras con ovipostura y un mínimo en machos.

El tejido que presenta las mayores variaciones es gónada, aún en cenizas, observándose que el contenido de éstos disminuye tanto con el avance sexual que las hembras con ovipostura llegan a tener la mitad de los machos. A su vez, los lípidos y proteínas tienen los valores máximos en dichas hembras mientras que los machos presentan las concentraciones más altas de carbohidratos. En forma global, se encontró una correlación negativa entre carbohidratos y proteínas y positiva entre lípidos y proteínas.

Los resultados se relacionan con la actividad reproductiva y se comparan con los obtenidos en otros gástrópodos.

SONDAS DE DNA ESPECIFICAS PARA LA IDENTIFICACION DE LA ENFERMEDAD BACTERIANA DEL RINON EN ESPECIES SALMONIDEAS. (Specific DNA probes for the identification of bacterial kidney disease in salmonid species). Martínez, M.A., Etcheagaray, J.P., Enriquez, R., Schäfer, J.W. y León, G. Inst. de Bioquímica, Fac. de Ciencias, Unidad Ictiopatología, Fac. Ciencias Vet. Universidad Austral de Chile, Valdivia.

La enfermedad bacteriana del riñón (bacterial kidney disease, BKD), es una de las principales patologías que afecta a la familia Salmonidae. Su agente causal es el diplococobacilo Gram positivo, *Renibacterium salmoninarum*. Se ha demostrado que la ova del salmón constituye el vector del microorganismo en la transmisión vertical de la patología. La elevada mortalidad y las dificultades existentes para el tratamiento del BKD, constituyen un serio peligro para la actividad salmonícola, la cual ha experimentado un espectacular crecimiento en nuestro país en los últimos años. A objeto de localizar la bacteria en el interior de ovas de salmón a través de un sistema diagnóstico preciso y sensible, hemos utilizado la tecnología del DNA recombinante. En nuestro laboratorio se inició la construcción de una biblioteca genómica de secuencias únicas a partir de las cepas de *R. salmoninarum*, aisladas de peces infectados. La construcción de esta biblioteca implicó el clonamiento selectivo de fragmentos de DNA presentes sólo en *R. salmoninarum*. El método involucra la reasociación competitiva de DNA del patógeno digerido con la enzima de restricción *Sau 3A* acelerada por fenol en presencia de un gran exceso (200 veces) de fragmentos de DNA obtenidos por sonicación provenientes de las cepas bacterianas relacionadas *Aeromonas salmonicida* y *Yersinia ruckeri*. El clonamiento molecular de los fragmentos reasociados se realizó en el sitio Bam HI de los vectores pUC19 y pBR322. De los clones obtenidos, se está estudiando en detalle los que contienen secuencias altamente específicas del DNA cromosomal de *Renibacterium salmoninarum*. Estas secuencias se utilizarán como herramientas para el desarrollo de un kit diagnóstico de BKD.

Financiado por Proyecto Fondecyt 0120/89.

EXPRESION DEL GEN *ompC* DE *S. typhi* Y ESTUDIOS DE DESTINACION DE LA PROTEINA A LA MEMBRANA EXTERNA. (Expression of the *S. typhi ompC* gene and outer membrane sorting studies of the protein). Martínez, M., Álvarez, B., Espino, L. y Ferrer, L. Unidad de Microbiología y Genética Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-9, Santiago, Chile.

La fiebre tifoidea es una enfermedad endémica en Chile y constituye un importante problema de salud pública. Es causada por *Salmonella typhi*, siendo el hombre su único hospedero. Con el objetivo de desarrollar una vacuna "viva" nos hemos dedicado al estudio de las porinas de la membrana externa de *S. typhi*, ya que se han encontrado títulos altos de anticuerpos contra ellas en pacientes con fiebre tifoidea en fase aguda o convalescente.

En una primera etapa de este estudio el gen de la porina *OmpC* de *S. typhi* fue clonado y secuenciado, encontrándose dos regiones diferentes entre *OmpC* de *S. typhi* y de *E. coli* que estarían en zonas expuestas de la superficie bacteriana. Resulta muy interesante construir anigroproteínas conteniendo estas secuencias y utilizarlas como antígeno en la superficie de bacterias inocuas como *E. coli* para una potencial vacuna. No obstante, es importante definir las regiones de la proteína necesarias para que ésta se exporte a la membrana externa.

Para iniciar estos estudios se alteró el gen *ompC*, reemplazando parte de la región del péptido señal por secuencias del vector de clonamiento y removiendo parte del extremo carboxilo terminal. Con este fin se subclonó el gen *ompC* y dos derivados más pequeños en pUC19 y se estudió la expresión de éstos. Los subclones utilizados fueron: pSTP2B (con el gen completo de *ompC* de *S. typhi*, incluyendo sus tres promotores y el gen *ompC*), pSTP2X (con la región codificadora de *ompC* faltándole la secuencia que codifica los 5 primeros aminoácidos del péptido señal), y pSTP2K2 (con parte de la región codificadora del gen, faltándole las regiones correspondientes a los 9 primeros aminoácidos y los 109 últimos aminoácidos del extremo carboxilo terminal). Los dos primeros clones expresan una proteína de 36 kDa de características electroforéticas idénticas a las de *OmpC* de *S. typhi*, en cambio, el subclon pSTP2K2 expresa una proteína incompleta de 30 kDa. Los subclones pSTP2B1 y pSTP2K2 están bajo el control del promotor *lac* de pUC19.

Se estudió la exportación de las proteínas recombinantes a la membrana externa por: detección de la proteína en preparaciones de membrana externa, infección por el fago P221 y por microscopía electrónica de bacterias intactas, tratados con suero anti-porinas de *S. typhi* y proteína A-oro coloidal. Los resultados indican que la porina *OmpC* de *S. typhi* es exportada a la membrana externa de *E. coli* aun cuando se ha modificado parte del péptido señal, pero sólo un porcentaje de ella es exportada a la membrana externa cuando además falta parte de la región carboxilo terminal; otra explicación factible es que parte de la proteína se suelta de la membrana durante el aislamiento de membrana externa.

Financiado por Proyecto FONDECYT 2026/87.

MODIFICACION DE LOS EFECTOS CARDIACOS DE ANGIOTENSINA II POR ATRIOPEPTINA Y CAPTOPRIL (Cardiac effects of angiotensin II modified by atriopeptin III and captopril). Martín, N.; Bardisa, L.; Chiang, L.; Román, R. y Sánchez, P. Depto. Ciencias Fisiológicas, Fac. Ciencias Biológicas y de Rec.Naturales, Universidad de Concepción.

Los efectos de angiotensina II y del factor natriurético auricular (atriopeptina III) fueron estudiados en aurícula aislada y en corazón perfundido de rata (técnica de Langendorff). Las aurículas espontáneamente latiendo fueron disecadas y suspendidas en un baño de 15 ml con una solución Ringer oxigenada y a 36°C. Tanto la cronotropía como la amplitud de la contracción auricular y del corazón se registraron mediante un transductor isotónico Harvard 356. La angiotensina II produjo un incremento de la amplitud de la contracción tanto en las aurículas como en el corazón perfundido, en relación a la dosis, mientras que la cronotropía no fue modificada. La incubación previa con atriopeptina III, durante 10 min. para las aurículas o la administración de este péptido en el Ringer de perfusión en el corazón, produjo un bloque del incremento de amplitud inducido por la angiotensina II en la primera, y un significativo efecto inhibitorio de la contracción, en el corazón perfundido.

En animales previamente tratados con un inhibidor de la convertasa (captopril, 25 mg/kg) los efectos de angiotensina II, en aurículas son modificados. La amplitud auricular decrece, mientras la cronotropía aumenta. Estos efectos están acentuados en presencia de atriopeptina III. Se discuten estas acciones comparativamente con noradrenalina e isoproterenol.

FONDECYT 89-524.

PROYECTO D.I., U. de C. 20-33-32.

EFFECTO DE ALGUNOS ACIDOS HIDROXAMICOS CICLICOS SOBRE MITOCONDRIAS AISLADAS DE MAIZ (*Zea mays* L.). (Effects of cyclic hydroxamic acids on maize mitochondria). Massardo, E., Zúñiga, G.E y Corcuera, L.J. Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

El DIMBOA es un ácido hidroxámico abundante en maíz y trigo y se detecta fundamentalmente como glucósido (DIMBOA-Glc) en la célula intacta. Al romperse la célula se produce la hidrólisis enzimática del glucósido generando una aglicona tóxica para bacterias, hongos, insectos, cloroplastos de espinaca y mitocondrias animales. Se desconoce, sin embargo, el efecto de la aglicona y de su glucósido sobre las células de las gramíneas productoras de estos compuestos. Por esta razón se estudió su acción sobre el consumo de oxígeno de una suspensión pura de mitocondrias aisladas de células del parénquima mesofílico de maíz. Se encontró que DIMBOA-Glc no alteró el transporte basal ni el acoplado, mientras que la aglicona DIMBOA mostró un ID<sub>50</sub> de 1-2 mM en ambos casos. No hubo diferencias al usar NADH o malato como sustrato. La concentración de ácidos hidroxámicos en las hojas de este cultivar de maíz alcanza hasta 8 mmoles/kPF. Por otra parte, el uso de desacoplantes no afectó la inhibición por DIMBOA. Se concluye que este compuesto actúa sobre la cadena transportadora de electrones, aunque no se descarta su posible acción sobre la ATPasa ligada a la membrana.

Universidad de Chile DTI-B2950-8813

#### EFFECTO DEL AMP-CICLICO SOBRE LA ESTIMULACION POR PEPTIDOS OPIOIDES DE LA ACTIVIDAD CITOLITICA NK.

Cyclic-AMP effect on opioid peptide stimulation of the NK cytolytic activity.

Maturana, P., Gaggero, A.\*, Miranda, D. y Puentes, J. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas y \*Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina-Norte. Universidad de Chile.

La actividad citolítica natural, NK ("natural killer") puede ser modulada por diferentes agentes endógenos o exógenos. En nuestro laboratorio hemos estudiado la acción estimuladora de esta actividad ejercida por los péptidos opioides metionina-enkefalina (ME) y  $\beta$ -endorfina (BE). En el presente trabajo se describe la inhibición por dibutilil-cAMP (dib-cAMP) de la estimulación mediada por ambos péptidos opioides.

La actividad NK se determinó utilizando linfocitos sanguíneos periféricos de donantes normales como células efectoras y células K-562 marcadas con  $^{51}\text{Cr}$  como células blanco. Los linfocitos se pre-incubaron por 1 h con ME  $10^{-6}$  -  $10^{-8}$  M, BE  $10^{-10}$  -  $10^{-12}$  M en presencia y ausencia de dib-cAMP ( $10^{-5}$  -  $10^{-3}$  M) efectuándose posteriormente la determinación de la citotoxicidad.

El porcentaje de estimulación de la lisis observada en presencia de ME o BE, de 30-40% sobre el control, fue significativamente inhibido por dib-cAMP (50-70% de inhibición) siendo el efecto dependiente de la concentración del nucleótido cíclico. Se desconoce el mecanismo de acción de los péptidos opioides en el sistema inmune; sin embargo, el efecto del cAMP se enmarca dentro de la acción general inhibitoria de diversos procesos de la respuesta inmune ejercida por este nucleótido cíclico.

Proyecto Fondecyt 88-0874.

EFFECTOS DE LOS CAMBIOS DE VOLUMEN PULMONAR POR COLAPSO Y REEXPANSION SOBRE EL SURFACTANTE ALVEOLAR DEL CONEJO. (Effects of the changes in lung volume by collapse and reexpansion on rabbit's alveolar surfactant). Mendoza, R., Oyarzún, M.J., Dussaubat, M., Lathrop, M.E., y Quijada, D. Departamento de Ciencias Preclínicas, División Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En estudios previos hemos demostrado que 6 días de colapso pulmonar por neumotórax unilateral en conejos disminuye el surfactante alveolar (SA), en tanto que la reexpansión del pulmón colapsado al cabo de este período normaliza el contenido de SA.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del colapso y de la reexpansión pulmonar sobre el contenido total y la distribución de las fracciones del SA en conejos con neumotórax derecho, mantenido durante 3 y 8 días a fin de evaluar el curso temporal de estas alteraciones.

Utilizamos conejos de 2.7 kg en promedio (n=32) anestesiados con Ketamina y Acepromazina i.m. Se les sometió a neumotórax inyectando 20 ml de  $\text{N}_2/\text{kg}$  en la cavidad pleural derecha. Periódicamente se repuso el  $\text{N}_2$  reabsorbido. Al 3er u 8o día el pulmón se reexpandió aplicando -700 mmHg a la cavidad pleural durante 2 h. Se practicó lavado bronco-alveolar (LBA) por 5 veces con NaCl 0.9% a CPT. Por centrifugación diferencial del LBA se separó 4 fracciones. Se determinó fosfolípidos (como índice de SA) y proteínas.

El SA en el LBA del pulmón colapsado disminuyó en un 20% al cabo de 3 días ( $p < 0.001$ ), lo cual no fue modificado por la reexpansión. Al cabo de 8 días de colapso o reexpansión no hubo variación en el SA. Las proteínas del LBA aumentaron significativamente sólo al cabo de 3 días de reexpansión.

Estos resultados nos permiten concluir que el colapso pulmonar luego de 3 días disminuye el SA y que la reexpansión no normaliza el SA a diferencia de lo que ocurre luego de 6 días de colapso. Luego de 8 días de colapso pulmonar el SA recupera su nivel control, hecho que podría atribuirse al desarrollo de circulación colateral.

Proyectos FONDECYT 0387 y D.T.I. - M-2709 Universidad de Chile.

UTILIZACION DE SONDAS OLIGONUCLEOTIDICAS DERIVADAS DE UN OPERON RIBOSOMAL PARA LA IDENTIFICACION DE CEPAS DE *Thiobacillus*. (Use of ribosomal operon derived oligonucleotide probes for identification of *Thiobacillus* strains). Flores, M., Rojas, E. y Sánchez, H. Unidad de Microbiología y Genética Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. Casilla 114-D, Santiago, Chile. (Patrocinada: Yudelyvich).

Entre las bacterias quimolitotróficas acidófilas involucradas en la nitrificación bacteriana se encuentran diferentes especies del género *Thiobacillus*. Se ha planteado la alternativa de utilizar microorganismos optimizados a través de manipulación genética como forma de mejorar este proceso. Para poder evaluar la acción de dichos microorganismos se requerirá de un método eficiente y específico, que permita una identificación rápida, sencilla e inequívoca. Con este objetivo hemos iniciado la evaluación de la utilización de sondas oligonucleotídicas como método de detección.

Las secuencias de rRNA han sido ampliamente usadas como herramienta de clasificación filogenética por su alto grado de conservación. Sin embargo, estos genes presentan zonas en las cuales las secuencias nucleotídicas varían notoriamente de una especie a otra. Por ejemplo, ha sido posible discriminar entre especies no relacionadas usando sondas derivadas del rRNA de 16S.

Los datos de homología de la secuencia nucleotídica de un operón ribosomal de *T. ferrooxidans*, revelaron que existen zonas muy conservadas y otras donde la secuencia difiere notoriamente con regiones equivalentes de otras bacterias. Basados en estos resultados escogimos tres regiones del operón de *T. ferrooxidans*, que comprenden la región espaciadora entre los genes de 16S y 23S rRNA (sonda 1) y dos zonas del gen para 23S rRNA (sondas 2 y 3), como potenciales sondas especie específicas. Además, se escogió un segmento de la zona extragénica como posible sonda copa específica (sonda 4).

Para la evaluación de estas secuencias como sondas de identificación se sintetizaron cuatro oligonucleótidos, los cuales fueron marcados radiactivamente en su extremo 5' e hibridados con cantidades equivalentes de RNA crómico de distintas especies presentes en el hábitat de *T. ferrooxidans* incluyendo, además, diferentes copas de esta bacteria.

Se encontró que la sonda 1 era capaz de discriminar entre las distintas especies ensayadas, hibridando sólo las copas de *T. ferrooxidans* y una copa de *Leptospirillum ferrooxidans*. Sin embargo, las sondas 2 y 3 no presentaron una especificidad adecuada. Por otro lado, la sonda 4 (extragénica) resultó ser copa específica.

Se discute la utilización práctica de algunas de estas sondas para identificación bacteriana.

Proyecto financiado por PNUB/OMUDI CH185/002 y PNUB/OMUDI/COPELCO CH188/003.

ORGANIZACIÓN ESTRUCTURAL DE PROTEOGLICANOS DE CARTILAGEN DE *Sphyrna lewini*. (Structural organization of proteoglycans from the cartilage of *Sphyrna lewini*). Michelacci, Y.M. and Horton, D.S.P.Q. Departamento de Bioquímica, Escola Paulista de Medicina, São Paulo, SP, Brasil.

The majority of proteoglycans (84% of uronic acid) were extracted from shark fin cartilage with 3 M guanidine hydrochloride (GuHCl). Conventional methods with either 4 M GuHCl or 8 M urea extracted only 36% and 12%, respectively. The proteoglycans have shown higher hydrodynamic sizes than those obtained for mammalian hyaline cartilages. Several chondroitin sulfate (MW=43,000) and keratan sulfate (MW=18,000) chains, in a ratio of 4:1, are attached to the same protein core. Enzymatic and chemical analyses have shown that the chondroitin sulfate is a hybrid polymer containing 90% Di6S and 10% Di4S and that the keratan sulfate is more sulfated than the corneal keratan sulfate. We were unable to show the presence of hyaluronic acid in the shark fin cartilage and the shark cartilage proteoglycans appear to lack the ability to form complexes with hyaluronic acid. These data suggest that the proteoglycans in shark fin cartilage present a structural organization which is different from that of mammalian cartilages.

(Aided by grants from FINEP, CNPq and FAPESP, Brasil).

**ACTIVIDAD DE LA PROTEINA QUINASA C MAMARIA EN LAS ETAPAS DE PROLIFERACION, DIFERENCIACION Y REGRESION.\***  
(Mammary protein kinase C activity during proliferation, differentiation and regression.)

Montecino, M., Patrocinio Dr. M. Sapag-Hagar.  
Dpto. Bioquímica y Biología Molecular-Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas-Universidad de Chile.

Al igual que en otros modelos biológicos, la acción de las hormonas y factores de crecimiento sobre los procesos de diferenciación y proliferación de la glándula mamaria, se realiza a través de distintos sistemas de transducción molecular. La activación del sistema de los polifosfoinositidos no sólo conduce a un incremento de los niveles intracelulares de  $Ca^{2+}$  sino que también a una activación de la proteína quinasa C (PKC) cuya actividad es dependiente de  $Ca^{2+}$  y fosfolípidos.

El papel fisiológico de la PKC en la glándula mamaria sólo se ha estudiado indirectamente a través de la acción de los ésteres de forbol, potentes activadores de la enzima. La actividad de ésta se ha correlacionado en forma inversa con la diferenciación del tejido mamario.

En el presente trabajo hemos iniciado la caracterización bioquímica-funcional de la PKC y el estudio de su regulación hormonal y asociación con los procesos de proliferación, diferenciación y regresión en la glándula mamaria. Nuestros resultados preliminares indican que con el inicio de la gestación, la actividad de la PKC mamaria se incrementa en un 90%, manteniéndose en este nivel hasta la mediana preñez. Sin embargo, a partir de esta etapa, su actividad cae bruscamente hasta el término de la preñez, en que la actividad basal disminuye en un 60% con respecto a la virginidad. Durante la lactancia se mantiene bajo el nivel de actividad, la que alcanza un promedio de 70% en relación al estado de virginidad. Puesto que diversos trabajos han asociado al  $Ca^{2+}$  con la diferenciación de la glándula mamaria, nuestros resultados indicarían que cada una de las etapas de transducción, de los polifosfoinositidos, cumpliría una función diferente. En resumen, tanto de la acción de la quinasa C y del AMP cíclico se asociarían con la proliferación celular, estableciéndose durante la preñez un modelo unidireccional de regulación molecular. (Trabajo dirigido por el Dr. M. Sapag-Hagar con la colaboración de S. Lavandero \*\* y M<sup>o</sup>.P. Ocaranza)

\* Financiado por proyectos FONDECYT 88-0872 y DTI - Universidad de Chile B-2116-8844.

\*\* Becario Fundación Andes.

**EFFECTOS DEL ACEITE DE ROSA MOSQUETA EN LA FLUIDEZ Y ACTIVIDADES ENZIMATICAS DE MEMBRANAS DE HEPATOCITOS Y DE ERITROCITOS EN RATAS Y SUS RESPUESTAS A ETINILESTRADIOL. (Rose hip oil effects on the fluidity and enzyme activities of rat hepatocytes and erythrocytes membranes and their response to ethinylestradiol).** Montalvar Y., Valenzuela C. L. y Celedón G. Departamento de Fisiología y Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

El aceite de rosa mosqueta (ARM) tiene un alto índice de poliinsaturación y un alto contenido de ac. linoléico. Estudios previos señalaron que su efecto es similar al del aceite de maíz (AM) a nivel plasmático, biliar y de membranas. En este trabajo se estudia comparativamente con AM el efecto de ARM en la fluidez (polarización de DPH) de membranas de hepatocito y de eritrocito y se relaciona con las actividades específicas de Na-K ATPasa y 5' nucleotidasa (5' Nu). Se analiza también la acción de etinilestradiol (EE).

Se alimentaron ratas machos Sprague-Dawley durante 20 días con dietas enriquecidas (16.7%) en ARM (n=18) o AM (n=18). En los 5 días siguientes se administró diariamente a 6 ratas de cada grupo 5 mg/Kg de EE. Las restantes se dejaron como control y como control de alimentación pareada. En membranas de hepatocitos ARM aumenta la actividad de ambas enzimas ( $p < 0.05$ ) y no modifica la fluidez ni la razón colesterol/fosfolípido (C/F/L), en membranas de eritrocitos disminuye la fluidez ( $p < 0.05$ ) y C/F/L tiende a ser mayor. EE no afecta en el hepatocito la fluidez, el C/F/L ni la actividad Na-K ATPasa, solo disminuye la actividad 5' Nu ( $p < 0.01$ ); el efecto es similar para ambas dietas. En el eritrocito sin embargo hay solo una tendencia a una menor fluidez y un menor C/F/L. (FONDECYT 2025/87 y COESAM)

**POLI ADP-RIBOSILACION DE PROTEINAS HISTONICAS TIPO CS DURANTE EL PRIMER CICLO DEL DESARROLLO EMBRIONARIO DE TETRAPYGUS NIGER.** (Poly ADP-ribosylation of cleavage stage histones during the first cell cycle of *Tetrapygus niger* development) Montecino, M., Puchi, M., Carrasco, L., Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción. CHILE.

La poli ADP-ribosilación constituye una modificación post-traducciona de proteínas, a la que se le ha atribuido gran importancia en diversos eventos celulares.

Debido a su posible rol en la regulación del grado de relajación y/o compactación de la cromatina, se estudió la presencia de esta modificación en proteínas histónicas tipo CS (estados de segmentación) recolectadas de cigotos de *Tetrapygus niger* en distintas etapas durante el primer ciclo del desarrollo embrionario.

La detección de la modificación se realizó por Western-blot con anticuerpos policlonales anti poli ADP-ribosa obtenidos en conejo.

La eficacia y la especificidad del método de detección se demostró al no observarse reacción con las proteínas luego que éstas fueron sometidas al tratamiento con fosfodiesterasa de veneno de serpiente, la cual elimina los polímeros de poli ADP-ribosa presentes en las proteínas.

Los resultados observados revelan una dependencia del ciclo celular en la poli ADP-ribosilación de la mayoría de las proteínas CS, disminuyendo notoriamente durante la mitosis.

Financiado por Proyecto FONDECYT 0789/88, Proyectos 20.31.11 y 20.31.17 de la Dirección de Investigación de la Universidad de Concepción.

**POSIBLE PARTICIPACION DE LAS CELULAS CEBADAS EN LA ACTIVIDAD CONTRACTIL DE LAS TROMPAS DE FALLOPIO HUMANAS.** (On the possible role of mast cells on contractile activity in human Fallopian tubes). Montesino, H.; Rudolph, I.; Ciuffardi, I.; Reinicke, K.; Rossat, C.; Weitz, P.; Cruz, M. Dpto. de Cs. Fisiol., Fac. de Cs. Biol. y Rec. Nat., Universidad de Concepción.

El rol de las células cebadas (c.c.) en el oviducto humano, aún no ha sido aclarado. Con el fin de conocer la importancia de estas células en la fisiología del transporte ovular, se estudió la distribución topográfica de las c.c., el contenido de histamina en distintos segmentos del oviducto, y el efecto de dos mediadores de las c.c.: histamina (H) y serotonina (5HT), sobre la actividad contráctil del oviducto.

Se trabajó con muestras de 47 mujeres, entre 29 y 48 años, obtenidas por esterilización tubaria (segmento medio) o por histerectomía total (trompa completa).

Las c.c. se detectó por técnica de pironina-G, diseñada en nuestro laboratorio. El contenido de H se determinó por el método de Shore y cols., y la actividad contráctil se registró en anillos del oviducto, los que se montaron en baño de órgano aislado, en condiciones fisiológicas.

Los resultados muestran las c.c. preferentemente entre las fibras musculares lisas. El contenido de H, en  $\mu\text{g/g}$  de tejido, mostró la siguiente distribución: Fimbria:  $2.25 \pm 0.57$  (n=14), Ampolla:  $2.57 \pm 0.99$  (n=6), Segmento medio:  $2.50 \pm 0.29$  (n=41), Infundíbulo:  $0.56 \pm 0.20$  (n=4), Istmo:  $7.05 \pm 1.66$  (n=4). ( $x \pm ES$ ). H y 5HT aumentaron la actividad contráctil y el tono basal de la pared tubal, efecto dosis-dependiente.

Se postula la participación de las c.c. en la regulación del transporte ovular, modificando la actividad contráctil de la pared tubal.

Proyecto FONDECYT 89-0706.

GRAN VARIANZA CONDUCTUAL MASCULINA EN LAS ELECCIONES CROMÁTICAS DE *Homo sapiens* (Big variance of male behavior in human color elections), Mora, W.U., Escuela de Psicología, Universidad Diego Portales, Vergara 275, Stgo.

Al estudiar las preferencias de colores en un contexto afectivo (basadas en el agrado), se observó que (i) la elección de colores no es al azar, (ii) el patrón de elecciones presenta diferencias intersexuales cuantitativas y (iii) la diversidad conductual es mayor entre los varones.

Frecuentemente se ha pretendido explicar el fenómeno de mayor varianza fenotípica masculina postulando herencia ligada al sexo: dado un gen polimórfico, la hemicigosis conduce a fenotipos extremos.

Sin embargo, este mismo fenómeno podría ser explicado como consecuencia de diversidad en la diferenciación sexual. El sexo femenino es de carácter "constitutivo", pero el sexo masculino requiere de un proceso de diferenciación que involucra expresión de genes (holándricos, ligados al sexo y autosómicos), factores maternos durante el desarrollo intrauterino y aprendizaje social.

Aplicada a las elecciones cromáticas, esta segunda hipótesis admite deducciones coherentes con datos de correlación entre parientes y con resultados de estudios de simulación.

Financiado por la Universidad Diego Portales. El autor agradece también a C. Y. Valenzuela.

FUNCION SECRETORA Y DEGRADACION INTRALUMINAL DE ESPERMATOZOIDES POR LAS CELULAS PRINCIPALES DEL EPIDIDIMO DE GATO ADULTO. (Secretory Activity and Sperm Intraluminal Degradation by the Principal Cells of the Adult Cat Epididymis). Morales, A., Cavicchia, J.C. Instituto de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Médicas. U.N.C. Mendoza. Argentina.

Epidídimos de gatos adultos normales fueron procesados para microscopía óptica y electrónica de transmisión. Las muestras se dividieron en cabeza proximal, distal, cuerpo y cola. Se observa la liberación fluctuante a lo largo del epidídimo, por estrangulamiento, de porciones apicales de citoplasma de las células principales hacia el lumen, en forma de esférulas rodeadas de membranas. Los espermatozoides se adhieren a estas esférulas, en especial en la cola del epidídimo, y sufren un progresivo proceso de invaginación, fagocitosis, disgregación de las organelas, y digestión gruesa. Esto se acompaña con un aumento paralelo de lisosomas primarios y secundarios, con distinto grado de digestión interna, residuos electrodensos alrededor del núcleo, gránulos de lipofuscina, y figuras mielínicas de distintos tamaños.

En conclusión, observamos en condiciones normales, una secreción apócrina gruesa en este epitelio, que es fluctuante a lo largo del epidídimo, y cuyo resultado es una digestión extracelular en las primeras etapas, y luego intracelular, de un número significativo de espermatozoides presentes en el lumen.

GLANDULA PINEAL: ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL Y EFECTO DEL FOTOPERIODO (PINEAL GLAND: ULTRASTRUCTURAL STUDY AND EFFECT OF PHOTOPERIOD). Morales, B.A. y Maturana F. Depto. Morfología Exp., Facultad de Medicina, U. de Chile.

La Glándula Pineal es un componente esencial del sistema Neuroendocrino, que regula la actividad reproductiva estacional. Ante fotoperíodo adecuado ejerce un efecto inhibitorio sobre la síntesis y secreción de prolactina y gonadotropinas hipofisarias. En el *Octodon degus*, ejerce un efecto inhibitorio de la actividad reproductiva en fotoperíodos de días largos.

En este trabajo se analizan las características morfológicas y ultraestructurales de la Glándula Pineal del *O. degus* y se observan las variaciones que experimenta en diferentes condiciones fotoperiódicas.

En este roedor la Glándula Pineal se encuentra ubicada en el techo del tercer ventrículo, detrás del cuerpo calloso. Es parenquimatosa, con forma de pirámide cónica y constituida por tres tipos celulares: dos tipos de pinealocitos y uno de células gliales. El más frecuente es el pinealocito I, de citoplasma pálido, forma redonda y con dos tipos de prolongaciones (largas y cortas). El pinealocito II es de citoplasma denso, con numerosos gránulos citoplasmáticos y de ubicación perivascular preferentemente. La célula glial es más escasa, de citoplasma denso, núcleo cromatínico y con varias prolongaciones que rodean a los pinealocitos adyacentes. Los pinealocitos se encuentran ampliamente en contacto con el espacio perivascular, en ocasiones formando fascículos de prolongaciones. Tanto el endotelio como los pinealocitos presentan membrana basal hacia el espacio perivascular. Las características de los pinealocitos y las células gliales son similares a las descritas para la mayoría de los roedores. Las Glándulas Pineales de animales en fotoperíodo de días cortos y oscuridad constante, presentan pinealocitos de mayor tamaño que los observados en días largos y con luz constante, lo que demuestra que son francamente sensibles al fotoperíodo. Estos resultados son similares a los observados en otros roedores estacionales.

ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO EN NEURONAS OLFATORIAS AISLADAS USANDO LA TÉCNICA DE POTENCIAL CONTROLADO. (Electrophysiological studies in isolated olfactory neurons). Morales, B., Urrutia, B. Depto. de Biología, Fac. de Ciencias, Universidad de Chile y Centro de Estudios Científicos de Santiago. (Patrocinado: J. Racionalino).

Las neuronas aisladas de la mucosa olfatoria de *Canis familiaris* preservan su morfología característica incluyendo la presencia de cilios y movimiento ciliar. Al establecerse un sello de alta resistencia (Gohm) entre una pipeta de patch y la membrana neuronal es posible registrar potenciales de acción que en ausencia de estímulo ocurren a una baja frecuencia. Al perfundir la cámara experimental con concentraciones submicromolares de odorantes se observa un cambio en la frecuencia de disparo de potenciales de acción. Este cambio es revertido al remover el estímulo de la cámara experimental. En la mayoría de los casos el estímulo genera un aumento en la frecuencia de potenciales de acción, pero en algunos casos, en algunos casos, una disminución. Estos resultados indican que las neuronas olfatorias aisladas del epitelio además de conservar intacta su morfología conservan también su propiedad de responder a agudos químicos con cambios en la frecuencia de disparo de potenciales de acción. Además se ha observado que 50 nM de emilorida y 4 nM de  $Co^{2+}$  disminuyen la frecuencia de disparos de potenciales de acción evocados por despolarización.

Hemos buscado condiciones que nos permitan estudiar las corrientes macrocíclicas de estas neuronas usando el patch-clamp. Para establecer la continuidad eléctrica del interior celular con la pipeta, permeabilizamos la membrana perfundiendo el ionóforo nistatina (1 µg/ml) dentro de la pipeta, lo que evita la dilución del contenido celular. En presencia del ionóforo, estimamos que la capacidad eléctrica de las neuronas aisladas está en el rango de 2-9 pF. Estimaciones del área de la membrana de la neurona olfatoria producen una capacidad de la misma magnitud medida experimentalmente. La resistencia en serie entre la pipeta y la célula tiene valores estimados en el rango de 10 a 30 MΩ. Estos resultados indican que en presencia de nistatina se establece la continuidad eléctrica necesaria para controlar el potencial de la célula (Voltage-Clamp). Las corrientes macrocíclicas evocadas por una despolarización tienen un componente transitorio de entrada y otro de salida sostenido.

Financiado por proyecto FONDECYT 1167/86. Grant NIH GN-35981 y Tinker Foundation.

REACCION ACROSOMICA (RA) DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS OBTENIDOS MEDIANTE DOS PROCEDIMIENTOS DISTINTOS. (Acrosome reaction of human spermatozoa obtained by two different procedures). Morales, P., Vigil, P., Ebensperger, A. y González, R. Unidad de Reproducción y Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile

El semen humano se caracteriza por la gran variabilidad en morfología y movimiento que presentan sus espermatozoides. Se ha descrito una serie de técnicas para obtener poblaciones de espermatozoides móviles. En el presente trabajo se comparó el porcentaje de espermatozoides recuperados mediante las técnicas de "Swim-up" (SU) vs gradiente de Percoll (P). Además, se comparó el porcentaje de RA espontánea e inducida por fluido folicular humano (hFF). Las muestras de semen se obtuvieron de pacientes referidos al CEBRE de la P. Universidad Católica de Chile. Cada muestra se dividió en dos alícuotas que se procesaron simultáneamente con ambas técnicas. Al término de cada procedimiento, las muestras se resuspendieron en 0.5 ml de medio Tyrode modificado (2.6% BSA) y se incubaron a 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. El porcentaje de RA se evaluó usando la lectina fluorescente PSA. La concentración espermática (X + SEM) recuperada fue de  $9 \pm 2\%$  (SU) y  $29 \pm 3\%$  (P), con respecto a la concentración inicial. El porcentaje de espermatozoides motiles recuperados fue  $21 \pm 5\%$  (SU) vs  $44 \pm 7\%$  (P). El porcentaje de RA espontánea fue:  $14 \pm 3\%$  (SU) vs  $12 \pm 2\%$  (P) a las 0 h,  $21 \pm 2\%$  (SU) vs  $24 \pm 2\%$  (P) a las 5h,  $42 \pm 6\%$  (SU) vs  $41 \pm 5\%$  (P) a las 24 h. El porcentaje de RA inducido por hFF fue  $60 \pm 5$  (SU) vs  $61 \pm 5\%$  (P). Los resultados indican que el porcentaje de espermatozoides motiles recuperados es mayor con P, por lo que esta técnica estaría recomendada en casos de oligospermia. Ambos métodos permiten obtener células funcionalmente comparables, capaces de reaccionar con hFF. Financiado por RF 85049/34.

EFFECTO DEL TEST-YEMA SOBRE LA REACCION ACROSOMICA Y EL TEST DE FUSION DE MEMBRANAS GAMETICAS. (Effect of Test-yolk upon the induction of the acrosome reaction and on the ability of human spermatozoa to fuse with zona-free hamster oocytes).

Moreno, R.D. & Barros, C. Laboratorio de Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El buffer test-yema es utilizado para descartar los resultados falsos negativos del test de fusión de membranas gaméticas. El efecto del test-yema sobre los espermatozoides podría estar asociado a un aumento en la incidencia de la reacción acrosómica o a un incremento en la eficiencia de los espermatozoides reaccionados para fusionarse con ovocitos de hamster sin zona pelúcida. En este trabajo hemos estudiado la cinética de la reacción acrosómica y de la fecundación de ovocitos de hamster sin zona pelúcida, utilizando espermatozoides humanos frescos y otros almacenados en test-yema. Los resultados mostraron un aumento en el porcentaje de reacción acrosómica de un 0% a un 30% en el grupo control, y de un 5% a un 30% en los experimentales, no observándose ninguna diferencia significativa entre el grupo control y el experimental ( $p < 0.0005$ ). Por otra parte al estudiar la tasa de fecundación utilizando ovocitos de hamster sin zona pelúcida se observó que al utilizar espermatozoides almacenados en test-yema siempre hubo fecundación y en todos los casos el porcentaje de fecundación fue igual o superior al obtenido con espermatozoides frescos. Al comparar las tasas de fecundación entre los experimentos controles y experimentales se pudo constatar que las últimas eran significativamente mayores que las primeras ( $p < 0.05$ ). Se concluye que al almacenar los espermatozoides humanos en test-yema, la tasa de reacción acrosómica se mantiene igual, en tanto que se aumenta la eficiencia de la fusión gamética. Financiado por FONDECYT 495/89 y GA-PS-87/10.

PURIFICACION DE UN ANTIGENO PROTEICO DE BRUCELLA ABORTUS. (Purification of a protein antigen from Brucella abortus). Morgado, F. y Oñate, A. Instituto de Medicina Experimental, U. Austral de Chile. (Patrocinante: M.I. Astorquiza).

Hemos demostrado anteriormente que las proteínas de bajo PM son importantes en la inducción de inmunidad. Una de estas se encuentra bien representada en la superficie bacteriana. En el presente trabajo se describe su purificación.

La proteína total de Brucella, extraída por sonicación, fue sometida a tratamiento con DNAsa y RNAsa, precipitada con un 10% de  $(NH_4)_2SO_4$  y el sobrenadante sometido a cromatografía en DEAE-celulosa y filtración en gel.

Se encontró que el tratamiento enzimático elimina una de las bandas de bajo PM. El posterior tratamiento con sal, permite reducir el número de proteínas y porcentaje de contaminantes de tipo LPS. La filtración en gel del peak eluido de la columna de DEAE-celulosa con 0.75 M NaCl, muestra 4 peak, donde el segundo eluye como una proteína globular con un PM aproximado de 15.000. El análisis por PAGE-SDS muestra una sola banda de PM 13,700 la cual es reconocida por un suero anti Brucella.

Se discute la posibilidad de utilizar esta proteína como una vacuna subcelular para el control de la Brucellosis.

Financiado por United Nations University Contract 87-041 e IFS Grant B/1122-1.

SINDROME DEL CROMOSOMA X FRAGIL: DIAGNOSTICO PRECOZ Y ESTUDIO FAMILIAR (The X-linked fragile X syndrome: early diagnosis and family study). Morizon, G. Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: M.J. Santos)

El síndrome del cromosoma X frágil (fra (X)) es una debilidad mental asociada a un sitio frágil en Xq27.3, siendo la forma más frecuente de retardo mental ligado al sexo y la segunda causa cromosómica de retardo mental, después de la trisomía 21. Su frecuencia es de alrededor de 1 en 1000 varones y 1 en 700 mujeres. Su diagnóstico puede ser difícil, ya que no todos los portadores del cromosoma X frágil, lo expresan a nivel clínico y citológico. Por lo tanto, es necesario buscar esta alteración cromosómica mediante técnicas especiales.

Se presenta un probando de 7 meses de edad, segundo hijo de padres aparentemente sanos. Su madre, miembro de una familia de fra (X), hermana de 2 varones afectados, tiene un cariotipo normal. Su primer hijo fue anencefálico, con un cariotipo normal. Por el antecedente de anencefalia y por la posibilidad de heterocigocidad de la madre, se indicó ácido fólico dos meses antes y durante todo el embarazo del probando.

El niño nació de término por cesárea (a petición de la madre), con un peso de 3500 g, una talla de 50cm y un circunferencia craneana de 35cm, siendo catalogado como niño normal. A los 3 meses, por indicación del genetista, se estudió su cariotipo, que reveló la presencia de un cromosoma fra (X) en el 15% de las células. Se inició tratamiento con ácido fólico 0.5 mg/Kg/día. A los 7 meses tiene un desarrollo sicomotor normal.

Se presenta este caso para ilustrar la importancia del diagnóstico cariotípico precoz del cromosoma X frágil y su eventual tratamiento.

DINAMICA VEGETACIONAL DE PRADERAS ARTIFICIALES DE UN SECTOR DE LA IX REGION - CHILE. (Vegetational Dynamics in an artificial pasture zone in the IX Region - Chile) Muñoz, M., Salazar, O., Facultad de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Educación y Humanidades, Universidad de la Frontera - Temuco. (Patrocinio: D. Ríos)

La ganadería de la región del sur de Chile, utiliza la pradera como base de su alimentación, la cual presenta una gran variabilidad en el contenido de minerales, dependiendo de los especies que la constituyen, del tipo de suelo y de la fertilización. Estas praderas presentan una gran complejidad y dinamismo a través del año y es de vital importancia conocer su producción, distribución estacional y su composición botánica.

El presente trabajo estudia la composición botánica, periodo fenológico y biomasa de praderas permanentes artificiales ubicados en la Estación Experimental Maipo perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de la Frontera, durante el periodo Mayo 1988 - Abril 1989.

La composición Botánica se determinó por la técnica del área mínima. Paralelo a ello se obtuvo la cobertura (%) de las especies. En las praderas se ubicaron 5 cuadrantes de 1m<sup>2</sup> para determinar los periodos fenológicos de las especies más representativas. La biomasa se obtuvo por peso seco (g).

Se encontró un total de 52 especies representadas en 12 familias. Las familias con mayor n<sup>o</sup> de especies durante el periodo de estudio fueron las Asteraceae, Poaceae y Fabaceae, los que coinciden además con el mayor % de cobertura.

En general el periodo vegetativo de las especies más predominantes abarcó los meses de Mayo-Noviembre 1988. A partir de este mes y hasta Enero de 1989 se obtuvo la etapa de floración, finalizando entre los meses Marzo-Abril de 1989 con el periodo de fructificación.

Los resultados se discuten en base a condiciones climáticas, manejo de la pradera y frecuencia de pastoreo.

HEPARINA ESTIMULA LA SINTESIS Y CAMBIA LA SULFATACION DE HEPARAN SULFATO EN CELULAS ENDOTELIALES EN CULTURA. (Heparin stimulates the synthesis and modify the sulfation pattern of heparan sulfate from cultured endothelial cells.) Nader, H.B. y Dietrich, C.P. Departamento de Bioquímica, Escola Paulista de Medicina, São Paulo, S.P. Brasil.

Heparin stimulates two to three fold the synthesis of heparan sulfate secreted by endothelial cells in culture. The stimulation is concentration dependent up to 100 µg/ml in the culture medium. Exposure of the cells to heparin results in an immediate increase of the synthesis of heparan. The effect is specific for heparin since no stimulation could be observed by chondroitin sulfate, dermatan sulfate and heparan sulfate from various sources. The effect is also independent of growth factors present in the serum or hormones, since the increased synthesis is observed in the absence of fetal calf serum in the culture medium. Degradation of radioactive heparan sulfate labelled with sulfate and tritium synthesized by the treated cells with heparinases and heparinase from *Flavobacterium heparinum* shows a significant increase of Ido,2S-GlcNS,6S with a concomitant decrease of GlcA-GlcNS,6S indicating a stimulation of the mechanism of sulfation of the uronic acid residues. These results are the first example showing that heparin interferes with the endothelial cell chemistry stimulating the synthesis and changing the sulfation pattern of heparan sulfate. This led us to speculate that the antithrombotic effect of heparin might be related with the formation of this new heparan sulfate in the vascular endothelial cells.

Aided by CNPq, FAPESP, FINEP, Brasil

CENTRIFUGACION DE EMBRIONES DE RATON DE 2 CELULAS: EMBRIONES FRAGMENTADOS (Centrifugation of 2-cell mouse - ova: Fragment embryos) Muro J.-Departamento de Biología Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional - de Trujillo, Perú.

En los trabajos experimentales de centrifugación de embriones de ratón de dos células, se observaron blastómeros seccionados por acción de la fuerza gravitacional denominándolos "embriones fragmentados" (EF). Se ha realizado el estudio morfológico y su comportamiento en cultivo hasta el período de blastulación.

Se emplearon embriones de ratón cepa (CF1, en estado de 2 células de hembras superovuladas, fueron centrifugados a 70,000 g por una hora en un gradiente discontinuo de Biggers-dextrano en concentraciones de 11% a 18% p/v a pH 7.2-7.4 a temperatura ambiente. Los embriones fragmentados fueron procesados para observación en microscopía de luz y cultivo en medio de Biggers.

Inhibidores del citoesqueleto como citocalisina D - (0.5 µg/ml) y colcemid (2 µg/ml) fueron utilizados para facilitar la fragmentación, siendo más eficaz la citocalisina D.

Se observó que la fragmentación se realiza entre el límite de los estratos hialino y granular, obteniéndose dos porciones independientes: la centrípeta que corresponde a los estratos lipídico y hialino y la centrífuga que comprende al estrato granular que contiene al núcleo. La fragmentación puede ocurrir en un solo blastómero - (medio embrión fragmentado) ó en ambos (embrión fragmentado).

Cultivados los EF no restituyen su integridad y permanecen sin modificarse. En los medios embriones, el blastómero normal realiza su recuperación morfológica, reordenamiento y reinicia su clivaje, sin llegar a blastular.

Trabajo realizado durante goce de beca OEA en el Laboratorio de Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

CONDUCCION IONICA Y PROPIEDADES CINETICAS DEL CANAL DE Na<sup>+</sup> DE MUSCULO ESQUELETICO DE RANA MODIFICADO POR BATRACOTOXINA (Ionic conduction and kinetics properties of the batracotoxin-modified sodium channel from frog skeletal muscle). Naraino, D. O. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Centro de Estudios Científicos de Santiago. (Patrocinio: R. Latorre).

La mayor parte de los estudios existentes sobre corrientes de sodio en músculo esquelético de vertebrados se han desarrollado en anfibios. Sin embargo, a nivel de corrientes unitarias, es muy poco lo que se conoce de los canales responsables de estas corrientes. Con el propósito de entender el comportamiento estos canales de Na<sup>+</sup>, estos se incorporaron a bicapas de fosfatidiletanolamina en presencia de batracotoxina. La incorporación se hace fusionando a la bicapa vesículas de una preparación altamente purificada en membrana de túbulos transversales de músculo esquelético de la rana chilena *Craugastor caudiververra*. La incorporación de un canal se detecta por la aparición de fluctuaciones discretas en la corriente que se registra a través de la bicapa. Estas fluctuaciones son características de la transición entre los estados abierto y cerrado. En 200 mM de NaCl simétrico, la conductancia del canal es de 10 pS, sin embargo, muy infrecuentemente se observa un subestado más conductor 15 pS. Este subestado se hace más frecuente al bajar la concentración de NaCl y es predominante en el rango 0.4 - 1 mM. En 0.4 mM Na<sup>+</sup> las conductancias de los subestados son 4 y 6 pS. La curva conductancia vs. concentración de Na<sup>+</sup> en el rango 0.4 - 200 mM para ambos subestados no puede ser ajustada con una simple isoterma de Langmuir, sin embargo, los datos pueden ser bien explicados por un modelo de conducción con dos sitios de ligamen, tres barreras de energía y carga superficial negativa en las bocas del canal. Para ambos subestados se obtiene un buen ajuste de los datos con valores de -8 kT para los sitios de unión, las barreras son 5.0 y 5.2 kT para los subestados de mayor y menor conductancia respectivamente, y la densidad de carga superficial es de una carga electrónica/2700 Å<sup>2</sup>.

En 200 mM NaCl el canal se encuentra abierto la mitad del tiempo a  $\approx -100$  mV. El tiempo fraccional abierto aumenta e-veces por cada 7 mV. La distribución de los tiempos de permanencia muestra dos poblaciones de estados abiertos y por lo menos tres poblaciones de cerrados.

Becario de Biofísica del Centro de Estudios Científicos de Santiago. Financiado por NIH-GM35981, DTI-2809, FNI-0451/88.

OXIDACION PEROXISOMAL DE ACIDOS GRASOS E INHIBIDORES DE LA CARNITINA PALMITOIL TRANSFERASA MITOCONDRIAL (CPTI). Peroxisomal fatty acid oxidation and inhibitors of the mitochondrial CPTI in rat isolated hepatocytes. Necochea, C., Johow, V., Soto, U., Grau, A., y cols. Departamento de Biología Celular, Universidad Católica de Chile. (Patrocina: F. Leighton).

La  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos en mitocondrias y en peroxisomas presenta sobreposición en la especificidad de sustrato y se desconoce si existen mecanismos regulatorios comunes. La CPTI regula el acceso de los ácidos grasos de cadena larga (AGCL) a la mitocondria, su sitio principal de oxidación. Los ácidos grasos de cadena mediana (AGCM) son buenos sustratos, tanto para mitocondrias como para peroxisomas. Para estudiar la interacción metabólica entre mitocondrias y peroxisomas, se observó el efecto de inhibidores de la CPTI en hepatocitos aislados, empleando cetogénesis y generación de  $H_2O_2$  como índices de actividad mitocondrial y peroxisomal, respectivamente. En ratas con proliferación peroxisomal, la inhibición de CPTI produjo un aumento de la actividad peroxisomal, 4 a 6 veces para palmitato, un AGCL. Inesperadamente, observamos además un efecto similar, de menor intensidad, empleando AGCM. Puesto que los AGCM no dependen de la CPTI para su utilización por las mitocondrias, y por otras observaciones realizadas, concluimos que los inhibidores de la CPTI podrían actuar también sobre la carnitina octanoil transferasa (COT). COT es una enzima de la matriz peroxisomal, potencialmente capaz de regular la  $\beta$ -oxidación peroxisomal. (Financiamiento de FONDECYT 250/88 y PNUD CHI/88/017).

CARACTERIZACION DE ANTICUERPOS POLICLONALES PRODUCIDOS CONTRA COMPONENTES SECRETORIOS DEL ORGANNO SUBCOMISURAL. (Characterization of polyclonal antibodies raised against secretory components of the subcommissural organ). F. Nualart y H. Montecinos. Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. (Patrocinio: S. Hein).

El órgano subcomisural (OS) secreta hacia el 3er ventrículo cerebral proteínas que se condensan formando la fibra de Reissner (FR). En transferidos de nitrocelulosa que contienen extractos de OS-bovino sometidos a electroforesis en geles de PAA-SDS, se observan 3 bandas FR inmunoreactivas de 540, 450 y 320 kD respectivamente, una de ellas una Con-A y otra LFA. Anticuerpos específicos contra cada una de estas bandas ayudarían a dilucidar si ellas corresponden a proteínas diferentes o es una proteína en diferentes estados de procesamiento.

Cada banda fue aislada por electroforesis preparativa e inoculada en ratas. Los antiseros obtenidos (Ac-p320, Ac-p450 y Ac-p540) fueron analizados inmunocitoquímicamente en cortes de OS y de FR e inmunocitoquímicamente en transferidos de nitrocelulosa, conteniendo extractos de OS-bovino sometidos a electroforesis en geles de PAA-SDS.

En las células de OS-bovino, el RER reaccionó preferentemente con Ac-p540, mientras que los gránulos apicales fueron inmunotendidos con los 3 antiseros. En las células de OS de rata reaccionó solamente el Ac-p320, reconociendo material presente en RER y gránulos apicales. La FR-bovino fue inmunopositiva con todos los antiseros. En los transferidos de nitrocelulosa se observaron 4 bandas inmunoreactivas frente a Ac-p540 y Ac-p450 (540, 450, 320 y 210 kD); 2 de ellas (320 y 210 kD) son también positivos frente a Ac-p320, antisuero que además reaccionó con una banda de 190 kD.

Los resultados sugieren que el OS-bovino secreta al menos 2 proteínas diferentes que constituyen la FR. Financiado por proyectos S-89-01 Dir. Inv. U.A.Ch y 88-0890 Fondecyt.

METABOLISMO ENERGETICO DE AVES PASERINAS EN ALTITUDES SIMULADAS: COMPARACIONES INTER E INTRAESPECIFICAS. (Energy metabolism of passerines birds at simulated altitudes: inter and intraspecific comparisons). Novoa, F.F., Rosenmann, M. y Rozinovic, F. Depto. Cs. Ecológicas, Fac. Ciencias, U. de Chile.

Frente a una disminución del  $pO_2$  ambiental los animales se pueden clasificar como:  $O_2$ -conformadores y  $O_2$ -reguladores. Existen evidencias que aves paserinas presentan una gran tolerancia a la hipoxia. Sin embargo, la respuesta específica de las aves frente a una disminución del  $pO_2$  no ha sido bien definida. El objetivo de este trabajo es establecer este tipo de respuesta metabólica.

Se estudiaron cuatro especies de distinta altitud (*Zonotrichia capensis*, *Carduelis barbatus*, *Sicalis auriventris* y *Phrygilus* sp.). Las mediciones metabólicas en normoxia e hipoxia se realizaron en cámaras de bronce conectadas a un respirómetro de circuito cerrado a diferentes  $pO_2$ .

En los mismos rangos de  $pO_2$  utilizados para la definición de  $O_2$ -reguladores, todas las especies muestran independencia metabólica del  $pO_2$  ambiental hasta altitudes simuladas de 11.000 m ( $P > 0.05$ ).

Estos resultados permiten postular que esta resistencia a la hipoxia se relaciona con las características del sistema respiratorio de las aves y no con su distribución altitudinal. Este tipo de respuesta es probablemente típica de la mayoría de las aves voladoras.

Financiado por FONDECYT 0846.

ACTIVACION DE DROGAS HIPOLIPIDEMICAS A ESTERES DEL COENZIMO A. GENERACION DE NUEVOS XENOBIOTICOS Y EFECTOS EN VIAS METABOLICAS. (Activation of hypolipidemic drugs to thioesters of coenzyme A. Generation of new xenobiotics and metabolic effects). Nuñez, L. y Cárdenas, L. y Brumfiel, M. Fac. Cien. Biol y Fac. de Medicina, P.U. Católica de Chile.

Diversas drogas hipolipidémicas de uso clínico que contienen grupos carboxílicos son activadas por el hígado a tio-ésteres del Coenzima A (CoA). Aparte de su efecto hipolipidémico, estas drogas producen variados efectos metabólicos en animales de experimentación, incluyendo proliferación de organelos, hepatomegalia y promoción de tumores. Recientemente hemos encontrado que estas drogas-CoA potencian la actividad de la proteína quinasa C *in vitro* (BBRC.159:1026-1031, 1989.). En este trabajo se analizó el efecto de algunas de estas drogas-CoA en la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos y se estudió la posibilidad de que, como sus análogos naturales, los acil-CoAs de ácidos grasos, pudieran incorporarse a ésteres del glicerol formando nuevos xenobioticos como triglicéridos y fosfolípidos conteniendo la droga en su estructura.

Los resultados muestran que el ciprofibril-CoA es un inhibidor de la carnitina acil-CoA transferasa I mitocondrial, enzima que regula la entrada de ácidos grasos a la mitocondria y también de la  $\beta$ -oxidación peroxisomal, sugiriendo que los efectos de proliferación de organelos inducidos por las drogas podrían en parte explicarse por inhibición que, *in vivo*, produciría acumulación de sustratos, al estar las dos vías posibles de  $\beta$ -oxidación parcialmente bloqueadas.

Usando Nafenopin- $^3H$ , otra droga hipolipidémica, tenemos evidencia preliminar de que esta se incorpora tanto a triglicéridos como a fosfolípidos, generando así nuevos xenobioticos que podrían tal vez explicar algunos de los efectos colaterales de estas drogas. (Financiado por Fondecyt 390/88).

**AISLAMIENTO DEL GEN QUE CODIFICA PARA RUSTICIANINA DE *Thiobacillus ferrooxidans* (Molecular cloning of the rusticyanin gene from *Thiobacillus ferrooxidans*).**   
 Nuñez, L., Moreno, F. y Jedlicki, E. Depto. de Bioquímica, Fac. de Medicina, U. de Chile.

Uno de los microorganismos más importantes en el proceso de biolixiviación de minerales es el *Thiobacillus ferrooxidans*. Debido a su carácter quimiolitotrófico, esta bacteria obtiene su energía a partir de la oxidación de ciertos compuestos reducidos. Uno de los sustratos energéticos utilizados por *T. ferrooxidans* es el ión ferroso. En la oxidación de este ión, los electrones liberados son transportados hasta el citoplasma por una cadena de proteínas entre las cuales está rusticianina. Se ha observado que los niveles de esta proteína disminuyen si la bacteria es criada en un medio que contiene azufre elemental, otro de los sustratos energéticos, lo que sugiere que existiría una regulación en su síntesis. En este trabajo presentamos los resultados obtenidos en el clonamiento y caracterización estructural del gen de rusticianina. Una genoteca de DNA cromosomal de *T. ferrooxidans* clonada en el sitio Bam HI del vector pBR322 se analizó utilizando como sonda un oligonucleótido sintético (54-mero), cuya secuencia nucleotídica fue derivada de la secuencia de aminoácidos de la rusticianina. Se aislaron y purificaron cinco tipos de clones diferentes. Un análisis tipo "Southern" de los plasmidios recombinantes obtenidos de estos clones mostró que los insertos de 2.4, 2.6, 2.8 y 2.9 Kb hibridaron con la sonda oligonucleotídica. Estos insertos fueron caracterizados mediante mapas de restricción y por la técnica de "Southern" se logró definir las regiones que hibridan con la sonda utilizada. Para confirmar la identidad de estos fragmentos con el gen de rusticianina, ellos fueron subclonados en un derivado del fago M13 para su posterior secuenciación por el método de Sanger. (Proyecto CHI/85/002, DTI B-2668-8823).

**CURSO TEMPORAL DE LAS VARIABLES ELECTROENCEFALOGRAFICAS EN LA TRANSICION AL SUEÑO ACTIVO EN LA RATA. (Time course of EEG variables during transition towards REM Sleep in the rat).**   
 Osampo, A., Zabata, A.M., Wynken, U., Roncagliolo, R. y Viviani, E.A. Depto. Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La secuencia de estados conductuales que configuran la arquitectura interna del sueño sigue una ordenación donde los cambios electroencefalográficos en la transición del SQ al SA expresan la supresión y emergencia de la actividad neural propia de cada estado (actividad delta y sigma de SQ, atonia suscular y theta hipocámpal en SA).

Presentamos datos de cuatro ratas crónicamente implantadas sometidas a un ciclo luz oscuridad 12:12 conectadas a un microcomputador que registra, cuantifica y almacena los elementos relevantes del EEG y ENG en bins de 15 segundos en forma ininterrumpida, y los clasifica en estados de SQ con mayor actividad delta (SQd) o sigma (SQs), en SA o en vigilia quieta (VQ) o activa (VA). Las matrices markovianas de probabilidad de transición de estados indican un predominio de transiciones hacia SA desde SQs y desde SA hacia VQ. Analizamos los 6 bins de SQ previos al comienzo de SA. El bin-1 tiene una actividad sigma significativamente mayor que el bin-2, y éste del resto de los bins de SQ, a diferencia de delta y tono muscular que muestran un descenso monótonico. La densidad de sigma y el tono muscular durante la transición son predictores directo e inverso de la duración del episodio de SA, independientemente de la fase del ciclo luz-oscuridad.

El que en la transición la actividad sigma anuncie que el SA ya viene sugiere que el proceso de activación que subyace al SA previamente libera los circuitos talámicos generadores de husos. Interesa discutir la contribución relativa de la modulación circadiana y la inducción interna de estados dentro del sueño en la orquestación del SA. Proyecto FONDECYT 1291-88.

**HONGOS ENTOMOPATOGENOS DE AFIDOS EN AREAS SILVESTRES PRE-ANDINAS Y CULTIVADAS DE CHILE CENTRAL. (Entomopathogenic fungus of aphids of wild preandine and cultivated areas of Central Chile).**   
 Oehrens, M.A. y Argandoña, Y.M. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Entre los enemigos naturales de los áfidos de los cereales, se encuentran los hongos entomopatógenos. En Chile central las infestaciones de los cultivos ocurren a principios de Otoño y en Primavera. Sin embargo, en las áreas silvestres los áfidos están presentes todo el año. El propósito de este trabajo es evaluar los porcentajes de áfidos con síntomas de infección fúngica relacionándolos con los factores climáticos (temperatura, humedad relativa y lluvia), e identificar las especies de hongos entomopatógenos en áreas silvestres preandinas y en áreas cultivadas de la Región Metropolitana.

Se detectó áfidos parasitados con hongos solamente en Primavera, tanto en las áreas silvestres (Reserva Nacional Río Clarillo y Lagunillas), como en áreas cultivadas (Estación Experimental La Platina). El porcentaje máximo de áfidos infectados por hongos en R. Clarillo fue 18%. En Lagunillas fue 21.5% y en La Platina 16%. Estos valores se detectaron cuando la humedad relativa fue 75% y las temperaturas medias fueron de 16 y 14.5 °C, en Río Clarillo y La Platina respectivamente. En los 3 lugares estudiados se identificaron las mismas especies: *Erynia neocaphidie* Remaudiere & Hannabert y *Entomophthora planchoniana* Cornu.

**MORFOLOGIA DE LA CONDENSACION DEL NUCLEO ESPERMATICO (Morphological changes associated with sperm nuclear condensation).**   
 Chanian, C. Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay.

La estructura de la cromatina espermática es poco conocida. Durante la espermiogénesis, la cromatina finamente granulosa de las espermátidas es gradualmente sustituida por fibras y haces gruesos, los que se acortan y coalescen constituyendo finalmente la densa masa homogénea del espermatozoide maduro. No se halla más la estructura nucleosómica típica de las células somáticas. Se cree que los cromosomas conservan su identidad, pero nada se sabe de su estructura y disposición. Coinciden estos cambios con el reemplazo de histonas por protaminas, indicando una estrecha dependencia de la cromatina espermática de la composición de sus proteínas básicas. No se conocen todavía los mecanismos íntimos de eliminación de las histonas, síntesis y deposición de otras proteínas y condensación de la cromatina espermática. Además de aportar una extrema compactación, resistencia e inactividad transcripcional, la condensación nuclear también parece asociarse a la adquisición de la forma y volumen definitivos del núcleo, favorables aparentemente para la motilidad espermática. Parece obvio que también protege al genoma masculino durante su prolongado tránsito hasta el sitio de la fecundación.

MODULACION RADIOINDUCIDA DE s-IgG; PARTICIPACION DE PKC. (Radiation induced s-IgG modulation: PKC participation). Ojeda, F., Andrade, J., Maldonado, C., Guarda, M.I., Instituto de Física, Universidad Austral de Chile.

La irradiación de linfocitos B induce modulación de sus receptores a IgG (s-IgG). El proceso es metabólicamente activo. Teniendo la activación un efecto radioprotector, se piensa que los procesos tempranos de activación pueden interactuar con la evolución de la lesión radiobiológica en linfocitos. En el presente trabajo se estudia el efecto de manipulación de PKC sobre la evolución de la lesión radiobiológica.

Suspensiones de linfocitos de ratón se irradiaron con distintas dosis de Rayos-X, previamente incubados o no con HA y H7 como inhibidores de PKC, luego se incubaron por 10' a 37°C y se marcaron con -IgG ratón acoplada a partículas fluorescentes. Como estimulador de PKC se usó PMA.

Se encuentra que la inhibición de PKC y no de PK depende de c-AMP inhibe el efecto de modulación radioinducida. La activación de PKC con PMA simula el efecto de modulación radioinducida en células B. El efecto desaparece con inhibidores de PKC. Se concluye que la PKC es un importante eslabón en la evolución de la lesión radiobiológica en linfocitos. Sobre la base de estos resultados y teniendo presente que se ha postulado que la membrana es el blanco primario de la irradiación se puede configurar la siguiente hipótesis: La irradiación induce producción de peróxidos en la membrana que elevan los niveles de diacilglicerol (DAG) e inositol trifosfato (ITP) activando la PKC que a su vez induciría la modulación de s-IgG.

Financiado por Dirección de Investigación y Desarrollo, Universidad Austral de Chile, Proyecto S-89-9.

EFFECTO DE PALMITOYL-CoA EN ISOENZIMAS DE PROTEINA KINASA C (Effect of palmitoyl-CoA on protein kinase C isoenzymes). Orellana, A., Morales, M.N., Morgan, C. Fac. Cien. Biol. y Fac. de Medicina, P. Universidad Católica de Chile,

La proteína kinasa C (pkC), kinasa dependiente de fosfolípidos y de calcio tiene un rol fundamental en la regulación de importantes fenómenos fisiológicos como secreción, contracción, funciones a nivel de receptores de membrana, y diferenciación celular.

Estudios de clonamiento molecular de cDNA han revelado la existencia de múltiples sub-especies de la enzima. Por otra parte, estudios bioquímicos muestran que la pkC altamente purificada de cerebro de rata es heterogénea, y al menos tres formas de la enzima pueden ser separadas por cromatografía en columna de hidroxipatita. Se ha también encontrado que diversos tejidos y líneas celulares expresan solo algunas de las isoenzimas.

Recientemente, hemos descrito que la actividad *in vitro* de la pkC purificada de cerebro y de hígado de rata, usando histonas como sustrato, es potenciada por acil-Coenzimas A de cadena larga (BERC.152:987-992, 1988). El mecanismo de esta activación parece explicarse por un aumento de afinidad de la enzima por fosfolípidos. Dado que estas observaciones han sido realizadas con preparaciones enzimáticas que contienen todas las isoenzimas, hemos analizado el efecto de acil-CoAs en las isoenzimas de cerebro, purificadas por cromatografía en hidroxipatita.

Los resultados muestran que las isoenzimas de pkC de cerebro son activadas por acil-CoAs, y que, aparentemente, esta activación es diferencial. Esta observación plantea la posibilidad de que las isoenzimas de pkC tengan diferentes moduladores de su actividad.

(Financiado por Fondecyt 390/88).

EXPRESION EN BACTERIAS DE LOS GENES DE TRES SUBUNIDADES ALFA DE PROTEINAS G DE OOCITO DE *Xenopus laevis*. (Expression in bacteria of the genes of 3 alpha subunits of G proteins found in *X. laevis* oocytes.) Olate, J. y Jorquera, H. Depto. Biotécnica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (Patrocinio: C. Connelly.)

Las proteínas G son una familia de proteínas de membrana, encargadas de traspasar la señal originada por una hormona hacia el interior de la célula. Ellas están presentes en todos los organismos eucarióticos, desde las levaduras hasta los mamíferos, indicando esto la importante función que ellas cumplen en la regulación celular. Actualmente se conocen alrededor de 15 de estas proteínas G, las cuales regulan diferentes sistemas enzimáticos sensibles a hormonas, neurotransmisores y factores de crecimiento. En oocitos de *Xenopus laevis* el proceso de maduración y fertilización es iniciado por la hormona progesterona y el espermio, respectivamente. Nuestro laboratorio y otros grupos han mostrado que la señal generada por la progesterona y el espermio es transducida hacia el interior del oocito por proteínas G. Estudios indirectos mostraron que estas proteínas pertenecen al tipo Gi y Gs. Con el propósito de identificar y caracterizar las proteínas G presentes en el oocito hemos clonado los cDNA codificantes para 4 de estas proteínas G. Análisis de su secuencia indica que corresponden a los tipos Gsa-1, Go, Gi-3 y Gi-1 descritos en mamífero. Para iniciar el estudio de la función de estas proteínas en el oocito se requiere de cantidades altas de la proteína en forma pura. En este trabajo se describe el subclonamiento de 3 de estos cDNA en un sistema bacteriano de expresión y el análisis de la síntesis de estas proteínas recombinantes en *E. coli*. Se analizan también algunas propiedades de estas proteínas G recombinantes, como su ADP-ribosilación por la toxina de *Bordetella pertussis*, su interacción con las subunidades beta y gamma y su capacidad de reconstituir la actividad de la adenilil ciclasa. (Apoyado por FONDECYT, The Council for Tobacco Research y la Univ. de Chile.)

EFFECTO DE ANDROGENOS Y CYCLOHEXIMIDA SOBRE POROS NUCLEARES Y UNIONES ESTRECHAS EN CELULAS EPITELIALES DE VESICULA SEMINAL EN LA RATA. (Androgen and cycloheximide effects on nuclear pores and tight junctions in rat seminal vesicle epithelial cells) Ortíz, H.E., Cavicchia J.C. Instituto de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Médicas, UNC. Mendoza, Argentina.

Se conoce que los poros nucleares y las uniones intercelulares estrechas son diferenciaciones dinámicas en relación a los requerimientos metabólicos celulares. Para determinar si sufren cambios por acción hormonal, ratas macho fueron castradas y tratadas con testosterona de reemplazo (1 mg/k/día), las vesículas seminales control, castradas y estimuladas fueron procesadas para microscopía óptica, TEM, y técnicas de criofractura. Los perímetros nucleares fueron calcados y procesados para obtener áreas nucleares. Hay diferencias significativas ( $p < 0.001$ ) entre control ( $279 \pm 8 \text{ nm}^2$ ) y estimulados ( $325 \pm 11 \text{ nm}^2$ ). Con técnicas de criofractura se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.005$ ) en la densidad de poros nucleares control:  $4.66 \pm 14 \text{ um}^2$ ; estimulados:  $5.38 \pm 0.24 \text{ um}^2$ . Se contaron las intersecciones producidas entre los trazos de uniones estrechas y un retículo estandarizado superpuesto, hay diferencias significativas ( $p < 0.001$ ) entre controles ( $0.53 \pm 8.1$  intersecciones/ $\mu\text{m}^2$ ) y estimulados ( $44.4 \pm 0.3$  intersecciones/ $\mu\text{m}^2$ ). Para determinar la participación de proteínas en dichas diferenciaciones, se administró a un grupo de ratas propionato de testosterona (3 mg/k) por 48 hs. y a otro grupo la misma dosis de testosterona y conjuntamente Cycloheximida (1 mg/k) ambos por 48 hs. Ambos grupos fueron sometidos a igual procedimiento para medir poros nucleares y uniones estrechas.

TRANSFERENCIA DE ENERGIA DE FLUORESCENCIA ENTRE Co(II) y 4',6-DIAMINO-2-FENILINDOL EN TUBULINA. (Fluorescence energy transfer between Co(II) and 4',6-diamino-2-phenylindole in tubulin). Ortiz M. y Monasterio. O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La tubulina posee un sitio de unión de alta afinidad para Mg(II) en el sitio intercambiable de GTP (sitio E), sobre la subunidad  $\beta$  y varios de baja afinidad. La forma del polímero depende de la naturaleza del metal. Para iniciar el estudio topológico de los sitios de unión de metales y su influencia sobre la conformación del dímero hemos utilizado la sonda fluorescente 4',6-diamino-2-fenilindol (DAPI) y tubulina nativa y digerida con subtilisina. Se ha reemplazado Mg(II) unido al sitio E por Co(II) (0,6 moles/mol tubulina). El espectro de emisión de fluorescencia del DAPI, unido al sitio de alta afinidad en la tubulina presenta un recubrimiento con el espectro de absorción del complejo tubulina-Co(II), por consiguiente es un par dador-aceptor adecuado para estudios de transferencia de energía de fluorescencia. Se determinó un valor de 0,414 para el rendimiento cuántico del DAPI unido a la tubulina. Las mediciones de transferencia de energía fueron efectuadas utilizando los complejos tubulina-DAPI como dador y tubulina Co(II) como aceptor. Se encontró que la distancia entre los sitios de unión del DAPI y Co(II) en la tubulina era de 35 Å. Se determinó por efecto de la polaridad de solventes que la sonda DAPI se encuentra expuesta al solvente en el dímero.

Experimentos preliminares muestran que el DAPI se unía al dímero de tubulina digerido con subtilisina, el cual carece de su extremo carboxilo terminal. La determinación de la distancia entre el DAPI y el Co(II) unido a la tubulina digerida nos permitirá conocer el efecto del extremo carboxilo terminal sobre la estructura de la tubulina.

Financiado por proyectos FONDECYT 1133-89 y DTI.

AVALIACION DE LA FRECUENCIA DE QUIASMAS EN MAIZ (*Zea mays* L.) Y SUS IMPLICACIONES CON LA CAPACIDAD DE COMBINACION PARA LA PRODUCCION DE GRANOS. (Chiasmata frequency evaluation in maize (*Zea mays* L.) and implications with combining ability for grain production. Pagliarini, M.S. y Aguiar-Perecin, M.L.R.de. Department of Biology, University of Maringa, Maringa, Brazil.

The combining ability of an inbred line has been defined as a function of its favourable genes number. On the other hand, we know that irregularities that occur during the meiotic process can affect the spores viability compromising the plant fertility. In this work inbred lines previously selected for high and low combining ability were evaluated in order to verify the correlation between meiotic stability and combining ability. Inbred lines with low combining ability showed lower chiasmata frequency per microsporocyte and higher univalent chromosomes frequency. The interstitial and terminal chiasmata frequency did not show correlation with combining ability. The univalent chromosomes presented irregular segregation in the spindle showing sometimes non-disjunction. Besides the lower chiasmata frequency and higher univalent chromosomes number some inbred lines with low combining ability showed other types of meiotic irregularities: break points, cell fusion, abnormalities in spindle and higher asynchrony in the meiosis. All these irregularities can affect the meiotic products. The results presented here suggest that the combining ability can not probably be only a function of a favourable genes number for grain production, but an association of these genes with a meiotic regular process that assures the total viability spores.

FUERZA MUSCULAR INSPIRATORIA EN PACIENTES CON CARDIOPATIAS DE BAJO GASTO CARDIACO. (Inspiratory muscle force in patients with low cardiac output). Palacios, S., Gajardo, J., Latorre, R., Morales, Y., Olmos, A. y Pino, J. Dpto. de Ciencias Fisiológicas y de Medicina. Universidad de Concepción.

Se ha sugerido que en pacientes con diversas valvulopatías, existiría disfunción de la musculatura inspiratoria (De Troyer, 1980), debido a una disminución del Gasto Cardíaco (GC) y/o al posible compromiso nutricional que estos pacientes pueden presentar. Recientemente demostramos (Rev. Méd. Chile, mayo 89), que en pacientes con Estenosis Mitral Severa (EM) y GC adecuado, la Fuerza Global de la Musculatura Inspiratoria (FMI) está normal. En el presente trabajo se evaluó la FMI en pacientes con cardiopatías severas, cuyo GC estaba disminuido.

Se estudió 7 pacientes, 6 mujeres y 1 hombre (37±8,6 años), sin antecedentes respiratorios previos, ni de otras patologías. El GC promedio ( $\bar{x}$ ) fue de 3.05±0.55 L/min y el Índice Cardíaco  $\bar{x}$  de 2.2±0.63. Se midió Capacidad Vital Forzada (CVF), Volumen Espiratorio Forzado del primer segundo (VEF<sub>1</sub>) y Flujo Máximo de Media Espiración (FMME) en espirómetro Collins. Se evaluó Capacidad Residual Funcional (CRF). Se midió Presión Inspiratoria Máxima (PIM) a CRF, usando un manómetro aneróide, índice que permite evaluar la FMI. Como grupo control del valor de PIM, se consideró los valores de 9 pacientes con EM estudiados previamente en nuestro laboratorio. Resultados: Los valores de CVF, VEF<sub>1</sub> y FMME expresados como porcentaje de su valor teórico, fueron normales en 2 pacientes; dos presentaron alteraciones restrictivas y los 3 restantes alteraciones obstructivas. El valor  $\bar{x}$  de CRF fue de 112±8,7%. La PIM  $\bar{x}$  fue de 61±6,4 cmH<sub>2</sub>O, valores menores (P<0,005) que los del grupo control (PIM  $\bar{x}$ =92±9,5 cmH<sub>2</sub>O). Nuestros resultados demuestran disminución de la FIM en los pacientes estudiados, confirmando la hipótesis de que cardiopatas de bajo gasto presentan disfunción de la musculatura inspiratoria, atribuible a un menor aporte de energía al tejido muscular.

Proyecto 20.33.31 D.I., Universidad de Concepción

VARIACION CARIOTIPICA EN *Leucocoryne*. (*Lillaceae*) (Karyotypic Variation in *Leucocoryne*). Palma-Rojas, C., Labarca, M. y Paez, A. Departamento de Biología y Química, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena.

Zoellner (1972) en su monografía sobre *Leucocoryne* (Lindley, 1830) describe 16 especies para este género autóctono. Con la excepción de los trabajos de Cave (1939) y Zanz (1968), la información citogenética existente sobre *Leucocoryne* es prácticamente nula. A objeto de contrastar parcialmente la actual taxonomía del género, se describen y comparan los cariotipos de *L. macropetala* (*L. ma.*), *L. purpurea* (*L. pu.*), *L. coquimbensis* (*L. co.*) y *L. sp.*

Los cromosomas se obtuvieron por aplastado de raicillas provenientes de bulbos y semillas pre-tratadas con antimetabólico y teñidas con Feulgen. En fotomicrografías los cromosomas se midieron, recortaron y ordenaron, y con los valores de sus mediciones se construyó un carioidiograma.

*Loa* y *L.pu.* comparten un mismo cariotipo 2n-18 esencialmente metacéntrico, en tanto que *L.ma.* y *L.sp.* presentan un mismo cariotipo 2n-10.

Los escasos antecedentes citogenéticos disponibles son coincidentes con la existencia de un cariotipo 2n-18 para *Leucocoryne*, pero no apoyan la drástica variación cariotípica observada. Esto permite sugerir la hipótesis que las especies 2n-10 pertenecen a un género distinto, pero afín a *Leucocoryne*. Por lo tanto, es necesario obtener nuevos antecedentes citogenéticos y morfológicos que permitan contrastar la hipótesis planteada.

**CORRELACION ENTRE INCIDENCIA DE FISURA LABIOPALATINA Y FRECUENCIA DE GRUPO ABO EN DIVERSAS MATERNIDADES DE CHILE.** (Correlation between cleft lip incidence and ABO group frequencies in different maternities of Chile). Palomino, H., Montenegro, M.A., y Palomino, H.M. Deptos. Biología Celular y Genética y de Morfología Experimental, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Diversos estudios han establecido que las poblaciones de origen oriental e indioamericanas presentan mayor susceptibilidad a la producción de fisura labiopalatina que las de origen europeo o negras. Para Santiago, dos estudios (Stevenson y cols. 1966; Nazer y cols. 1980), muestran también una relativa alta incidencia.

Con el objeto de establecer una relación entre susceptibilidad a la fisura y determinantes genéticos o de naturaleza étnica, dada las diferencias sociogenéticas de nuestra población, se recopiló la información de los nacimientos de 7 maternidades, 6 de Santiago y una de Arica. Sobre un total de 219.448 nacimientos, se registró una tasa de 1,23 individuos con labio leporino solo o asociado a fisura palatina cada 1000 recién nacidos vivos (RNv). Entre las maternidades existen diferencias que están altamente correlacionadas con las frecuencias genéticas de los alelos del sistema ABO. Así en la maternidad de Arica se encuentra una tasa de 1,49 x 1000 (1 fisurado cada 673 RNv) y con una frecuencia del alelo O de 0,907 hasta tasas de 0,60 x 1000 (1 cada 1669 RNv) con una frecuencia génica del alelo O de 0,697 encontrada en la Clínica Alemana de Santiago. Un índice de indigenidad calculado por las frecuencias genéticas, da un 73% de mezcla indígena en Arica, hasta un 17% en la Clínica Alemana. Esta gradiente de susceptibilidad y frecuencia génica del sistema ABO estaría también asociada a factores socioeconómicos, dado que la menor susceptibilidad y las menores frecuencias del alelo O se encuentran en las clínicas de atención privada.

PROYECTOS DITI. U.CH B-2368 y FONDECYT 0801-89

**MELATONINA AFECTA LA VARIACION CIRCADIANA DE PROLACTINA PLASMÁTICA (PRL) EN CORDEROS RECIENTE NACIDOS.** (Melatonin affects the circadian variation of plasma prolactin in newborn lambs). Parraguez V.H.; Holmgren, L.\*; Cayan, P.\*; Garay, F.\*; Llanos, A.J.\*. Unidad de Reproducción y Desarrollo, Dpto. Cs. Fisiológicas, Fac. Cs. Biológicas, P. U. Católica de Chile y \*Laboratorio de Fisiología y Fisiopatología del Desarrollo, Dpto. de Preclínicas, Cs. Médicas Oriente, Fac. Medicina, U. de Chile. En ovinos los niveles plasmáticos de PRL presentan variación estacional. En verano, PRL está elevada y presenta ritmo circadiano. En invierno, PRL disminuye y no se observa ritmo. Tratamiento con melatonina disminuye PRL en fetos, recién nacidos y adultos. Para investigar si melatonina afecta el ritmo circadiano de PRL, cateterizamos 10 corderos recién nacidos (9 a 12 días de edad), los que se mantuvieron en luz continua desde el nacimiento. A 5 de ellos se le aplicaron implantes subcutáneos de 1g de melatonina en silastic. Los restantes fueron el grupo control. A todos los animales se les tomaron muestras de sangre de 1 ml cada 1 h durante 24 h, entre los 20 y 27 días de edad. Se midió PRL y melatonina en plasma por RIA. Los datos se analizaron utilizando el método Cosinor. La concentración plasmática de melatonina fue de 594 + 55 pg/ml en los tratados y de 53 + 27 pg/ml en los controles ( $\bar{X}$  + E.S.  $p < 0.01$ ). La concentración de PRL plasmática del grupo tratado fue menor que la del grupo control (25.1 + 2.4 vs 97.5 + 11.3,  $\bar{X}$  + E.S.  $p < 0.01$ ). Tratamiento con melatonina suprime el ritmo circadiano de PRL: Controles: log PRL (ng/ml) = 1.8 + 0.26 cos 15 (t - 11.16),  $p = 0.05$ . Tratados: log PRL (ng/ml) = 1.2 + 0.14 cos 15 (t - 9.43),  $p = 0.36$ . Los resultados sugieren que melatonina alteraría la función del oscilador circadiano que controla el ritmo de PRL. Financiado por DIUC 75/86, Rockefeller HD 83016 y FONDECYT 0321/88.

**PARTICIPACION DE LA DENSIDAD DE LAS CELULAS PROLACTINOTROPAS EN LA SECRECIÓN DE PROLACTINA.** (Role of lactotroph cell density on prolactin secretory activity)

Pasolli, H.A., Torres, A.I. y Aoki, A. Centro de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, República Argentina.

En la glándula hipofisaria, tanto la estimulación como la inhibición de la actividad secretoria de las células prolactinotropas son acompañadas por alteraciones en el proceso de proliferación o involución de esas células. Con el objetivo de dilucidar la participación de la densidad celular en la secreción de prolactina (PRL), se correlacionó la densidad de volumen (Vv) de las células prolactinotropas, con el contenido de PRL sérica (PRLs) e hipofisaria (PRLh). Se utilizaron ratas hembras: 1) Ovariectomizadas (Ov). 2) Ov. tratadas con 10 µg/rata de benzoato de estradiol (BE). 3) Ov. tratadas con 3 dosis de BE de 10 µg/rata. 4) En lactancia. 5) 72 hs postlactancia. 6) tratadas subcrónicamente con sulpiride. Se determinó PRLh y PRLs por RIA. Las hemihipófisis fueron procesadas para la detección de PRL por inmunocitoquímica a nivel de microscopía de luz (técnica de oro coloidal intensificado con plata) y posterior análisis morfoométrico de estas células.

La estimulación estrogénica produjo un aumento del 188% del volumen de tejido secretor de PRL para una dosis de BE y del 249% para las tres dosis, con un aumento paralelo del contenido de PRLh. En la lactancia, la Vv alcanza el máximo valor, con altos niveles de PRLs y menor cantidad de PRL por célula. Al cesar el estímulo de succión, las células de PRL sufren un proceso de regresión, con disminución de la Vv, mínima actividad secretoria y acumulación de PRL en la hipofisis. La máxima actividad secretoria se observa en la estimulación subcrónica con sulpiride que origina los más altos valores de PRLs y aumento de la Vv, pero con bajo contenido celular de PRL. Las células prolactinotropas respondieron ante los diferentes estímulos con incrementos en la Vv. En condiciones de alta actividad secretoria, estos incrementos se acompañaron de niveles disminuidos de PRLh. De acuerdo con estos resultados podemos concluir que los diferentes tipos y grados de estimulación de la actividad de las células prolactinotropas, inducen cambios en los valores de Vv estrechamente correlacionados con los valores de PRLh y PRLs.

**INTERACCION LUPINOS-SELENIO EN GALLINAS** (Interaction Lupinos-Selenium in Hens).

Faz de la Vega, Y. Depto. Ciencias Clínicas Facultad Cs. Veterinarias y Pecuarias, U. de Chile.

La creciente demanda de alimentos proteicos de uso animal debido al aumento de la masa ganadera y agrícola ha obligado a incrementar la producción de insumos proteicos tradicionales, y a la incorporación de nuevas formas de proteínas como complemento, entre ellos las semillas de lupinos.

Uno de sus inconvenientes lo constituye la presencia de alcaloides, en la variedad amarga. El posible efecto tóxico de estas sustancias dependen de la presencia de factores, entre ellos el Selenio (Se) que tendría la capacidad de disminuir este efecto.

Se programó un ensayo con el objeto de observar los efectos de dietas adicionales de semillas de lupinos amargo (*Lupinus angustifolius*) solas y en presencia de Se sobre diversos parámetros productivos y reproductivos en gallinas.

Se utilizaron 24 gallinas White Leghorn de 79 semanas de edad, divididos en 4 grupos de 6 aves cada uno, las que fueron alimentadas con raciones de semillas de lupinos solas y lupinos-selenio, en diversas concentraciones y por un período de 21 días.

Se compararon y analizaron los efectos producidos sobre los parámetros en estudio.

De los resultados obtenidos, se deduce la posible existencia de un efecto protector del Selenio frente a los efectos inducidos por lupinos en algunos parámetros observados.

ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA EN EMBRIONES RETARDADOS DE 2 CÉLULAS DE RATÓN (Alkaline Phosphatase Activity on delayed 2-cell mouse embryos). Pella, R., Vargas, V., Orihuela, P. & Iñiñiga, V. Laboratorio de Reproducción y Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Apartado 2647, Lima 1, Perú.

La fosfatasa alcalina es una fosfomonoesterasa utilizada como marcador para estudiar la diferenciación celular durante el desarrollo preimplantacional de mamíferos. Su actividad es detectada empleando el método citoquímico del citrato de plomo, desde el estado de 4 células, evidenciando así una regionalización de membrana en las zonas de contacto interblastomérico.

Se planteó el estudio de la relación entre actividad enzimática, tiempo de desarrollo y número celular, para lo cual se obtuvieron embriones de 2 células con retardo normal in vivo durante las horas del segundo ciclo celular. La actividad de la fosfatasa alcalina (AFA) fue detectada por el método citoquímico de Gomori adaptado por Izquierdo et al. (1980) y evaluada en microscopía de luz.

La cantidad de embriones de 2 células encontrados durante las horas del segundo ciclo celular va disminuyendo con el tiempo, por el contrario la AFA se hace más frecuente, presentándose esta de dos formas: una a lo largo del contacto celular cuya frecuencia aumenta con el tiempo, y la otra en el citocortex de la zona libre de contacto celular que va disminuyendo.

Considerando que la división celular en estos estados tempranos del desarrollo es asincrónica, los embriones de 2 células con AFA son considerados retardados. Sugiriendo que el inicio de la AFA es independiente del número celular, siendo su regulación diferente al que da inicio a la regionalización de membrana.

NUCLEOGENESIS EN EL DESARROLLO DEL HUEVO HUMANO IN VIVO: ANÁLISIS ULTRAESTRUCTURAL. (Nucleogenesis in the human embryo developing in vivo: Ultrastructural analysis). Pereda J. Departamento de Morfología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los estados tempranos del desarrollo embrionario de mamíferos se caracterizan por la ausencia de actividad nuclear. Por lo tanto, los procesos del desarrollo quedan, por un cierto tiempo, bajo control genético materno, el cual es ejercido por ribosomas que fueron producidos durante la oogenésis. En este trabajo se analiza la estructura nuclear durante el desarrollo preimplantacional del huevo humano in vivo, a fin de establecer el momento de aparición de diferenciación estructural en el núcleo, como un primer signo de expresión del genoma embrionario en humano.

Cuatro embriones de 2, 4, 7, y 16 células fueron analizados por medio del microscopio electrónico de transmisión. En los embriones de 2 y 4-células, la estructura del núcleo no correspondía a la de uno funcionalmente activo, en ellos había una estructura constituida por una masa compacta de un material electro-denso. Esta estructura, definida como precursor nuclear, mostraba en el embrión de 4-células una infiltración periférica de cromatina nuclear. En el embrión de 7-células comienzos de síntesis y procesamiento de RNA se pudo deducir por la aparición de gránulos nucleolares. Un nucleólo típico se observó en el embrión de 16 células, con la diferenciación intranuclear de un componente fibrillar y otro granular característico de un nucleólo maduro.

Estos resultados muestran que durante el desarrollo preimplantacional humano in vivo, la expresión génica embrionaria se manifiesta en el fenotipo nuclear al estado de 7-células. Probablemente, el proceso de diferenciación nuclear comienza después del segundo surco de segmentación.

RESPUESTAS AUDITIVAS DIRECCIONALES EN EL MESENCÉFALO DE *B. arenarum* (AMPHIBIA, BUFONIDAE). (Directional auditory responses in the mesencephalon of *B. arenarum* (Amphibia, Bufonidae)). Penna, C. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En vertebrados terrestres la localización de sonidos en el espacio depende de la actividad de neuronas sensibles a diferencias de intensidad y tiempo de llegada de sonidos a ambos oídos. Los anfibios anuros utilizan esta capacidad al orientarse hacia señales de comunicación a distancia que los machos emiten durante la época de reproducción. En este estudio se explora la direccionalidad de respuestas neuronales mesencefálicas en *B. arenarum* y se relaciona esta función neuronal con el repertorio vocal de esta especie.

Las respuestas de neuronas aisladas fueron registradas con micropipetas de vidrio, preamplificadas y grabadas en cinta magnética para posterior cuantificación de las descargas mediante computador. Los estímulos consistían en tonos de 100 ms dados a través de un parlante que rotaba en un radio de 50 cm en torno al animal. Los estímulos eran aplicados desde posiciones espectadas cada 30° en el hemisferio anterior. Se estimulaba a la frecuencia característica de cada unidad con niveles de sonido de 10 dB sobre el umbral mínimo.

Se encontraron neuronas con respuestas direccionales de frecuencias características entre 100 y 1500 Hz. Las unidades respondían a cambios en la dirección del sonido variando el número y latencia de sus descargas. La mayoría de las neuronas descargaban preferentemente a 90° contralateral al hemisferio de registro.

Las respuestas neurales obtenidas muestran en *B. arenarum* una direccionalidad similar a otras especies de anuros que emiten canto nupcial. Esta evidencia contribuye al estudio comparado de la direccionalidad de las respuestas neuronales con especies de *Bufo* que carecen de señales de comunicación a distancia y sólo emiten vocalizaciones de contacto.

Financiado por CONICYT y D.T.I., Universidad de Chile.

INACTIVACION DIFERENCIAL DE LAS FORMAS MOLECULARES DE LA ACETILCOLINESTERASA (AChE) POR  $Mg^{+2}$ . (Differential inactivation of AChE molecular forms by  $Mg^{+2}$ ). Perelman, A. & Inestrosa, N.C. Unidad Neurobiología Molecular, Fac. Cs. Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La AChE, enzima que hidroliza a la acetilcolina, se encuentra en múltiples formas moleculares en los vertebrados. Estas difieren en su estructura cuaternaria y en su modo de asociación a las membranas celulares. No se les ha encontrado ninguna diferencia funcional o farmacológica en la cinética de la catálisis. Hemos encontrado que las formas dimericas ( $G_2$ ) y asimétricas ( $A_{12}$ ) son selectivamente inactivadas por  $MgCl_2$  4 M; sin embargo la tetramérica ( $G_4$ ) es sólo levemente afectada. Esta diferencia observada no se debe a efectos del distinto microambiente producto de la extracción de la enzima. El tipo de dominio de anclaje de cada forma de AChE no está involucrado en esta sensibilidad diferencial. Además, monómeros derivados de las distintas formas se comportan de la misma manera que las formas originales ensambladas. Todas estas evidencias indican que las diferencias entre la enzima  $G_4$  y las otras dos formas ocurren a nivel de las subunidades catalíticas. Este hecho podría estar relacionado con alguna de las siguientes posibilidades: (1) un procesamiento alternativo del ARN del gen de la AChE; (2) un procesamiento post-traducciono o (3) la existencia de múltiples genes. Además, basado en esta sensibilidad diferencial de las formas  $G_4$  y  $A_{12}$  a  $MgCl_2$  hemos desarrollado un método simple y rápido que permite determinar las formas moleculares de la AChE en músculos esqueléticos de rata.

CARACTERIZACION DE LAS GLICOPROTEINAS PRESENTES EN VESICULAS DE TUBULOS TRANSVERSALES Y RETICULO SARCOPLASMATICO AISLADAS DE MUSCULO ESQUELETICO DE RANA. (Characterization of glycoproteins present on transverse tubules and sarcoplasmic reticulum vesicles isolated from frog skeletal muscle). Pérez, G., Hall, K., Andersen, D., Gutiérrez, C. y Sachs, G. Laboratorio de Membranas Biológicas, Veterans Administration Medical Center-University of California, Los Angeles, CA 90073. (Patrocinio: M.T. Núñez).

Las propiedades de glicosilación de vesículas de túbulos transversales (tubulos-T, cara extracitoplasmática hacia adentro) y retículo sarcoplasmático (RS) aisladas de músculo esquelético de rana fueron investigadas por diversos métodos. Las proteínas se sometieron a electroforesis en geles en gradiente (10-12,5%) en presencia de SDS y posteriormente se transfirieron a membranas de Polivinildifluoruro (PVDF). Proteínas de peso molecular 150kd, 85kd y 66kd presentes en el túbulo-T y de 66kd y 51kd en el RS presentaron una marcación intensa con ConA-biotina. Al tratar las vesículas de túbulos-T y RS con Glicoproteína F (rompe el enlace asparaginil-oligosacárido) y posterior reacción con ConA-biotina se observa una alteración en la movilidad electroforética de la proteína de 150kd, y una eliminación completa en la unión de ConA a las proteínas de 85kd en el túbulo-T y 66kd en el RS. Marcación de los carbohidratos por galactosiltransferasa y <sup>3</sup>H-UDP-galactosa y microscopía electrónica usando técnicas de post-fijación con WGA-oro muestran que los sitios de unión (carbohidratos) están hacia el lado extracelular. Por una serie de evidencias la proteína de 85kd parece ser la enzima MgATPasa. Las proteínas de 150kd y 85kd (MgATPasa) de túbulos-T y 66kd en el RS al parecer presentan una orientación extracitoplasmática del componente oligosacárido, de tipo unión-N y con un residuo N-acetil-glucosamina terminal. Veterans Administration SMI 001.

ANALISIS DE LA SECRECION BASAL DEL ORGANOSUBCOMISURAL DE LA SERPIENTE *N. maura* UTILIZANDO ANTICUERPOS Y LECTINAS A NIVEL ULTRAESTRUCTURAL. (Ultrastructural immunocytochemical and lectins histochemical study of the basal secretion of the snake *N. maura*). Pérez-Figares, J.M., Peruzzo, B., Pérez, J., Fernández-Llebrez, P., Rodríguez, E.M. Instituto de Histología y Patología, Universidad Austral de Chile, Valdivia; 2) Departamentos de Biología Celular y Fisiología, Facultad de Ciencias, Málaga, España.

Las células ependimarias secretorias del órgano subcomisural (OSC) de los reptiles poseen prolongaciones basales que terminan sobre vasos sanguíneos y la leptomeninge. El material secretorio presente en estas prolongaciones, y el cual podría estar ubicado en el RER o en gránulos densos descritos en dichas terminaciones, se investigó utilizando: i) un anticuerpo producido contra material secretorio del OSC; ii) concanavalina A como marcador de la secreción glicoproteica del RER; iii) lectina de germen de trigo (WGA) como marcador de la localización post-Golgi de estas glicoproteínas. Se encontró que en las prolongaciones basales, el material secretorio inmunorreactivo se localiza en gránulos secretorios (WGA-positivos) formados en el aparato de Golgi. Se concluye que estos gránulos son transportados a lo largo de los procesos basales y se acumulan en las terminaciones perivasculares y meníngeas. Esto apoya la hipótesis de una liberación local del contenido de estos gránulos, dado que un transporte reverso de dichos gránulos de un extremo a otro de la célula, para finalmente liberar su contenido al líquido cefalorraquídeo parece paradójico.

Grant S-89-01 de la D.I. Universidad Austral a E.M.R.  
Grant PB 870710 DGCYT a P.F.LL.  
Grant BOJA 2719/88 Junta de Andalucía a P.F.LL.

CONEXIONES CITOESQUELETICAS INTERBLASTOMERICAS DEFINEN DOS ETAPAS DE LA COMPACTACION EN LA MORULA DE RATON (Interblastomeric cytoskeletal connections define two stages of the compaction in the mouse morula). Roxana Pey y Luis Izquierdo. Depto. Biol. U. de Chile.

En la mórula de ratón se establecen conexiones citoesqueléticas interblastoméricas durante la compactación en condiciones normales y durante tratamientos descompactantes con EGTA y alfa-lactalbúmina, pero no con CCD. Una vez establecidas, las conexiones no se modifican por esos tratamientos descompactantes prolongados, aunque disminuyen cuando se trata con CCD. La formación de las conexiones determina dos etapas estructurales que además son funcionalmente distintas. Los embriones, que aun no han establecido las conexiones (2 hr postcompactación), se recompactan lentamente y después de un retardo cuando se les transfiere a calcio normal, pero no se recompactan en un medio sin calcio y su recompactación no es afectada por Verapamil. Los embriones, que ya han establecido sus conexiones (6 hr postcom.), se recompactan rápidamente y sin retardo, aunque se transfieren a medio sin calcio y su recompactación es inhibida por Verapamil. Además, mórulas que se descompactan y mantienen por 4 hr en EGTA (edad en que han formado conexiones al igual que los controles) no se recompactan al ser restituido el calcio al medio sino que hasta 24 hr postcomp. La diferencia en la cinética de recompactación de la mórula, relacionada con las conexiones, parece ser dependiente de calcio. Dicha diferencia no se observa en estudios de recompactación cuando la descompactación se ha producido por tratamiento con CCD. Financiado por FONDECYT y U. de Chile.

EFFECTO PROTECTOR DEL FACTOR NATRIURETICO ATRIAL (ANF) SOBRE LA INFLAMACION INDUCIDA POR AGENTES VASOACTIVOS EN MEJILLA DE HAMSTER. (Protective effect of atrial natriuretic factor (ANF) on inflammation induced by vasoactive agents in the hamster cheek pouch). Piddo, C.; García, B.M. y Avala, S., Departamento de Ciencias Fisiológicas, F.CC.BB., P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: M.P. Borić).

Se ha propuesto que el ANF actúa sobre el endotelio, aumentando la permeabilidad al agua, iones y proteínas. Por esto se evaluó la posible modulación del ANF sobre la acción de dos tipos de agentes inflamatorios.

Se aplicó tópicamente bradicinina (BK: 5 min 0.1, 0.3 ó 1.0 uM), Glucosa Oxidasa (GOD: 10 min 1.4-10 U/ml), o peróxido de hidrógeno (H2O2: 10 min 0.75-7.5 mM), en la mejilla de hamster superfundida y observada bajo microscopía intravital. La reacción inflamatoria se evidenció por la extravasación de dextrano fluorescente de 150 Kd (FITC-Dex 150, 10mg iv) y se cuantificó por la depuración plasmática de este trazador (Cl-Dex).

La respuesta a GOD o H2O2 consistió en una brusca aparición de múltiples sitios de escape de FITC-Dex 150 (SDE) luego de aproximadamente 30 min de latencia, seguido de un aumento continuo en Cl-Dex hasta los 60-75 min, y su magnitud fue variable respecto de la dosis. BK produjo un rápido aumento, dosis dependiente, en SDE y en Cl-Dex, con máximo a los 20-40 min y caída posterior. El pretratamiento de la mejilla con ANF (0.1 uM x 10 min) inhibió significativamente las reacciones producidas por GOD y H2O2, en tanto, no modificó la respuesta a dosis altas de BK.

Estos resultados muestran que el ANF no potencia estas reacciones inflamatorias. Al contrario, el ANF tiene un efecto protector frente al dano multifactorial producido por acumulación de radicales libres; pero no es efectivo frente a la BK, que actúa directa y reversiblemente sobre el endotelio. Los mecanismos que expliquen estos efectos disímiles del ANF deben ser objeto de futuras investigaciones.

Financiado por Proyecto FONDECYT 642/89.

**CORTEZA ADRENAL: PERMEABILIDAD INTERCELULAR AL NITRATO DE NIQUEL** (Adrenal cortex: intercellular permeability to the nickel nitrate). Piezzi R.S., Gutiérrez L.S. y Fogal T.- IHEM, U.N.Cuyo, Mendoza.

La corteza adrenal fetal sufre importantes cambios fisiológicos y morfológicos en su tránsito a la madurez post-natal. Interesados en estudiar las características ultraestructurales de los contactos celulares de la corteza neonatal durante el desarrollo, se realizó el siguiente trabajo. Se usaron ratas de 1, 4, 7 y 10 días de edad y se compararon con adultas de 90 días. Los animales fueron perfundidos por vía cardíaca con una solución de glutaraldehído al 5%, en buffer cacodilato, con teniendo 1% de nitrato de níquel. Las muestras fueron refijadas en osmio más ferrocianuro de K, incluidas en Epon y procesadas para ser observadas en el M.E.

Resultados: 1) El trazador penetró en los espacios intercelulares de la cápsula y la zona cortical. No se observaron depósitos de níquel entre las células cromafines. 2) La corteza de 1 y 4 días muestran células separadas por: a) espacios constantes (20-22 nm) permeables al níquel con uniones "gap" y b) espacios amplios e irregulares. Se observan proyecciones tipo (microvellosidades) de las membranas de células parenquimales con depósitos de níquel en su interior. 3) En ratas de 7, 10 y 90 días de edad los espacios son constantes y permeables al marcador. En la reunión de tres ó más células se observan "microcanales" permeables al níquel y finas prolongaciones citoplasmáticas que hacen protusión en los mismos. Se sugiere que el desarrollo de los contactos célula-célula es un parámetro estructural dependiente de la edad, que se va organizando desde la cápsula hacia el interior.

**EFFECTO DE UNA INYECCION DE 100 U.I. DE hCG SOBRE LOS RECEPTORES PARA ESTEROIDES EN CELULAS INTERSTICIALES DE TESTICULO DE RATA.** (Effect of 100 U.I. hCG injection on steroids receptors of rat testis interstitial cells). Pino, A.M. y Orszag A.

Unidad de Biología de la Reproducción, INTA, Universidad de Chile. (Patrocinio: L. Valladares).

La actividad esteroideogénica testicular resulta de la actividad metabólica de las células de Leydig, estas células producen, además de testosterona (T), otros esteroideos como estradiol (E) y progesterona (P). Se ha descrito que las células de Leydig tienen receptores específicos para los esteroideos mencionados. Nosotros hemos propuesto que estos esteroideos podrían tener una acción hormonal en la célula que los sintetiza. En este trabajo utilizamos una inyección de 100 U.I. de hCG, porque se conoce su efecto dramático sobre la actividad esteroideogénica: se observa una producción bifásica de T, con máxima concentración plasmática en las 2 y 72 h y un período refractario en que aumentaría la concentración de E y P. El objeto de este trabajo fue analizar el efecto de esta modificación de la producción de los esteroideos, sobre la concentración de los receptores correspondientes. El estudio se realizó en células intersticiales de ratas adultas inyectadas o no con 100 U.I. de hCG. Luego de distintos tiempos (2-96 h), se obtuvo fracciones de citoplasma y núcleos que se incubaron con concentraciones apropiadas de  $^3\text{H}$ -esteroide, en presencia o ausencia de un exceso de la hormona no marcada. Los resultados obtenidos demuestran que la distribución de la actividad ligante para E, T y P en citoplasma y núcleo, se encuentra relacionada con la producción celular del esteroide correspondiente; este modelo permite demostrar una acción funcional de los 3 receptores analizados y una interrelación funcional entre la acción de E y P.

Financiado por FONDECYT Proy. 973-88 y 1024-89.

**TIROSINA PROTEIN KINASA EN ESTADOS TEMPRANOS DE DESARROLLO DEL ERIZO DE MAR *Tetrapygus niger*.** (Tyrosine Protein Kinase in early development of sea urchin *Tetrapygus niger*). Pino, E., Bustamante, M. y Umschenitzky, M.. Departamento de Biología Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción. CHILE.

La fosforilación de proteínas en residuos de serina y treonina es la modificación más frecuente en la regulación de la actividad celular. Sin embargo, en la última década se ha descrito una fosforilación en residuos de tirosina en células neoplásicas y tejidos normales en rápida proliferación catalizada por tirosina protein quinasas (TPK). Esta actividad se ha asociado además, a receptores de diferentes factores de crecimiento y al receptor de insulina.

Con el objeto de determinar la actividad de TPK en los primeros ciclos de segmentación de embriones de equinodermo, se midió la actividad de esta enzima a diferentes tiempos post-inseminación de oocitos de erizo de mar *Tetrapygus niger* determinando la incorporación de  $^{32}\text{P}$  proveniente de ATP gamma marcado, en el péptido  $[\text{Val}^5]$  Angiotensina II.

Los resultados obtenidos indican que existen dos picos transientes de actividad durante el período investigado, coincidentes con la transición G<sub>1</sub>-S para la primera y segunda onda replicativa respectivamente.

La actividad TPK encontrada presenta máxima actividad a pH 7,0 y 10<sup>0</sup> es activada por Mn<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> y Ca<sup>2+</sup> e inhibida por Zn<sup>2+</sup>. Se determinó una Km aparente para MnATP de 22μM.

Proyecto FONDECYT 0789-88

Proyecto Universidad de Concepción 20.31.29.

**DESARROLLO DE UN SISTEMA COMPUTARIZADO PARA ENTRENAMIENTO DE RATAS EN TAREA DE DISCRIMINACION VISUAL SIMULTANEA.** (Development of a computerized system for simultaneous visual discrimination in rats).

Pinto-Hamuy, T.; Jenkins, W.M.; Passig, C.; Arraztoa, J.A.; Guadagno, H.; Petit, D. y Olivares, R. Depto. Fisiología y Biofísica, Fac. de Medicina, U. de Chile. \*Dept. of Physiol & Otolaryngology, U. Cal. SF. USA.

Con el objeto de automatizar un sistema de discriminación visual simultánea, se modificó la caja de saltos de Sutherland en el siguiente sentido: compartimiento de partida, plataforma de elección (discriminanda: triángulo blanco erecto vs. invertido), dos compartimientos comederos y dos corredores laterales que comunican el comedero con la caja de partida. A través de una interfase análogo-digital se conectó la caja-modificada con un PC Apple IIe, el cual comanda y registra su funcionamiento. El programa incluye un método de corrección (COR) y uno sin (NON). 12 ratas albinas hembras de 2 meses de edad, deprivadas al 80% de su peso fueron repartidas en dos grupos: Grupo 1 (N=7) con entrenamiento manual en una caja de igual diseño y Grupo 2 (N=5) con entrenamiento automatizado usando 3 sesiones COR y luego NON. Cada sesión incluyó 20 ensayos. RESULTADOS: El grupo entrenado manualmente logró criterio de aprendizaje (80% o más de respuestas correctas) con un promedio de 171 ensayos (SD=39.34), en la modalidad automatizada requirieron un promedio de 224 ensayos (SD=8.94), no encontrándose diferencias significativas entre ambos grupos. La caja modificada imprimió al proceso de aprendizaje características diferentes: 1) Porcentajes de respuestas más altos (90-100%) y estables, 2) Ascenso abrupto de la curva de aprendizaje. La ventaja de la automatización en sí y la menor entrega de claves por parte del experimentador, serían inherentes al sistema.

Proyecto FONDECYT 118/88.

**IDENTIFICACION DE GUANILIL TRANSFERASA DE ROTAVIRUS.** (Identification of rotavirus guanilyl transferase) Pizarro, J., Fernández, J. y Spencer, E. Unidad de Virología. INTA. Universidad de Chile.

Rotavirus está constituido por al menos 7 proteínas estructurales y los 11 segmentos de RNA de doble hebra que constituyen el genoma. El virus activado "in vitro" tiene la capacidad de transcribir el genoma sintetizando los 11 mRNA correspondientes; los productos contienen un extremo cap en el 5' terminal y su tamaño es igual a una hebra de templado. La transcripción requiere de tres actividades enzimáticas asociadas a la partícula: la RNA polimerasa, la guaniltransferasa y una ATPasa. Si bien hay evidencia que Vp1 es la transcriptasa, respecto a las otras dos actividades no se tiene información sobre que proteína estructural es la responsable. Mediante el empleo de un ensayo que consiste en determinar unión covalente de GTP a proteínas, hemos determinado que Vp3 sería la guaniltransferasa. Este ensayo es específico para este tipo de actividad y único para las guaniltransferasas. La actividad óptima se obtiene en presencia de MgCl<sub>2</sub> a una concentración 15 mM o con MnCl<sub>2</sub> a concentración de 10 mM, es inhibida por reactivos tales como DTT y tiene un pH óptimo de 7.9. La unión en presencia de MgCl<sub>2</sub> es específica para GTP y dGTP. Cuando se usa MnCl<sub>2</sub> puede unir además de los anteriores otros nucleótidos trifosfato. La actividad se ha detectado en diferentes aislados virales como en cepas de rotavirus crecidos en cultivo como virus SA11. La asociación de esta actividad con Vp3 se determinó usando diferentes subpartículas virales obtenidas "in vitro" tales como virus completo, de simple cubierta y core. Este último solo contiene Vp1, Vp2 y Vp3. Al analizar la movilidad electroforética del complejo se puede observar que este comigra solo con VP3.

Financiado: Proyecto FONDECYT #1017, y Fundación Andes.

**TRANSCRIPCIÓN DE ROTAVIRUS HUMANO: ESTUDIO DE INHIBIDORES Y ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS ASOCIADAS A LA TRANSCRIPCIÓN.** (Human rotavirus transcription: Study of inhibitors and enzymatic activities related to the transcription). Pizarro, J.M., Spencer, E. Unidad de Virología. INTA. Universidad de Chile

Se ha descrito que la formación de la estructura Cap en el extremo 5' de los mensajeros virales y la hidrólisis de ATP, son dos eventos indispensables en el proceso de transcripción en Rotavirus. Con el fin de poder contar con un inhibidor efectivo de los eventos de transcripción y/o replicación, se utilizó una serie de análogos, tanto de S-Adenosilmetionina (SAM), como de nucleótidos, especialmente de ATP, en sistemas "in vitro" e "in vivo". Experimentos realizados con S-Adenosil homocisteína y Homocisteína tioractona, análogos no metilantes de SAM, demostraron que no poseen efecto inhibitorio eficiente al agregarlos al sistema, solos o en presencia de SAM.

Se probó el efecto de análogos de nucleótidos con modificación a diferentes niveles en su estructura química. Sólo los que poseían modificación en el azúcar, tales como: Ara ATP, Ara CTP, Cord TP y 2'-3'-dialdehído ATP resultaron ser eficientes inhibidores "in vitro", encontrándose un efecto irreversible para éste último. Mediante el uso de 2'-3'-dialdehído ATP radiactivo, se logró determinar a VP3 como proteína de unión, la que además tendría características de "GTP binding protein".

Los resultados obtenidos al utilizar análogos de nucleótidos "in vivo", demostraron tener correlación con los resultados "in vitro": Cord y Ara A presentaron efecto inhibitorio tanto de la transcripción como de la replicación. Concomitante con estos resultados, se detectó una actividad ATPasa asociada a la partícula viral, determinándose la presencia de dicha actividad, en el "core" viral.

Este trabajo está financiado por el proyecto DTI #B-2175-8844 U. de Chile y proyecto Fondecyt #1017.

**SOBRE LOS ELECTROCITOS DE LA RAYA PATAGÓNICA *Psammodon tetta*.** (On the electrocytes of the Patagonian ray *P. tetta*). Prado Figueroa M. y Barrantes, F. -INTIBIB-UNS-CONICET.

Para estudios del sistema colinérgico se utilizan más los órganos eléctricos de Torpediniformes que de Rajiformes. Nuestras investigaciones se centraron en la búsqueda, localización y análisis ultraestructural de los órganos eléctricos en rayas Patagónicas (Rajiformes). Los localizamos en la especie, por nosotros determinada: *P. tetta*; éstos son de posición caudal, alargados, cilíndricos y macroscópicamente presentan alvéolos. Para el estudio ultraestructural de los mismos se procedió a seccionarlos en fragmentos de 1mm de sección y a fijarlos en glutaraldehído al 1.5 % en tampón fosfato 50 mM, pH 7.4 y luego a postfijarlos en OsO<sub>4</sub> al 1% en el mismo tampón a 4°C y siguiendo los métodos clásicos. El análisis al microscopio electrónico de transmisión revela la presencia de: electrocitos, axones terminales, células satélite y numerosas fibras de colágeno. Los electrocitos son células de forma semicircular, con dos regiones bien diferenciadas: una anterior -cóncava- innervada y otra posterior -convexa- no innervada. En su citoplasma se localizan numerosos filamentos de actina, ordenados en paralelo, con líneas Z bien definidas. Los axones terminales son numerosos, redondeados y en la región postsináptica se ubican los núcleos del electrocito; con muchas similitudes al músculo estriado y marcadas diferencias con los órganos eléctricos de los Torpediniformes. Este sistema descrito podría servir como modelo ideal para estudios de la sinapsis colinérgica.

Financiado por el CONICET, Argentina.

**EFFECTO DEL SUELO SOBRE LA FORMACION DE RAICES PROTEIFORMES.** (Soil influence on the formation of proteoid roots). Ramírez, C., Contreras, D., San Martín, C. y Kusche, M. Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Las raíces proteiformes son conglomerados locales de raicillas neoténicas, con gran cantidad de pelos radicales que aumentan la absorción. En una misma especie presentan gran variación, dependiendo de las condiciones en que se desarrolla la planta. Se estudió la influencia de diferentes suelos en la formación de raíces proteiformes de *Gevuina avellana*, el avellano chileno.

Se trabajó con suelos de escoria volcánica, trumao, aluvial, rojo arcilloso y de laja descompuesta. Con cada suelo se llenaron 50 macetas y en cada una, se sembró una plántula de avellano. A los 270 días se cosecharon las plantas, procediendo a contar, medir y pesar las raíces normales y las proteiformes.

El mayor número de conglomerados se presentó en el suelo trumao y el menor, en laja; en cambio, la mayor biomasa se encontró en el rojo arcilloso y la menor, en la escoria volcánica y en el trumao aluvial. En el rojo arcilloso hubo mayor aglomeración de suelo. La relación vástago/raíz fue menor en este mismo suelo, presentándose como el menos favorable para el desarrollo del avellano. El mayor valor se alcanzó en el trumao aluvial. El tamaño promedio de los conglomerados fue mayor en la escoria y menor, en el trumao aluvial. Estos valores se relacionaron con variables físico-químicas de los suelos.

(Proyecto NR S - 85 - 27 de la DID-UACH)

ESTIMULACION DE LA TRANSCRIPCIÓN DEL GEN DE ERITROPOIETINA Y CINÉTICA DEL mRNA EN RESPUESTA A HIPOXIA Y COBALTO. (Stimulation of erythropoietin gene transcription and kinetic of messenger RNA during hypoxia and cobalt exposure). Ramírez, S., Schuster, S., Piderit, A., Badiavas, E. y Caro, J. Cardeza Foundation Thomas Jefferson U. Philadelphia, P.a. USA. (Patrocinio: J. Puente)

La producción de Eritropoietina (EPO), en hígado fetal y en riñón adulto es modulado por cambios en los niveles de oxígeno en el tejido. La hipoxia estimula la producción de EPO e induce un aumento específico del RNA mensajero (mRNA), el cual no es detectable en condiciones normales. Para caracterizar la regulación del gen de EPO se usó una línea celular de hepatoma Hep 3 B, que expresa el gen en forma regulada ante hipoxia o en presencia de cobalto. La cinética de inducción de las células por efecto de hipoxia mostró niveles detectables de mRNA a las 2 hrs, mientras que los niveles de EPO determinados por RIA, se observaron alrededor de 5 hrs después de comenzar la inducción. Cuando las células fueron inducidas con cobalto 50  $\mu$ M la respuesta fue más lenta, 4 y 12 hrs respectivamente. Al discontinuar la hipoxia o cuando el cobalto fue removido del medio, se observó una rápida caída del mRNA y una disminución de la producción de EPO. La respuesta a hipoxia ya no se observa cuando las células son inducidas en presencia de cicloheximida 15  $\mu$ M mientras que en otros genes (GAPDH) no hubo efecto, o se observó un aumento en los niveles de mRNA (c-myc).

Experimentos de "RUN-ON" con núcleos aislados de células crecidas en condiciones normales (20% O<sub>2</sub>) o hipoxicas (1% O<sub>2</sub>), mostraron que hipoxia estimula la transcripción del gen, confirmando lo que habíamos observado con núcleos aislados de riñones de ratas expuestas a hipoxia (Blood 73:13, 1989).

Podemos concluir entonces que la regulación del gen de EPO es controlada al menos en parte a nivel de la transcripción, y que se requiere síntesis activa de proteínas y de la presencia continua del inductor para que se manifieste la respuesta.

Tc45: UN ANTIGENO INMUNODOMINANTE E INMUNOGENÉTICAMENTE DEFINIDO DE I. cruzi (Tc45: an immunodominant and immunogenetically defined I. cruzi antigen). Ramos, R., Juri, M.A., Aguilón, J.C. y Ferreira, A. Depto. Biología Celular y Genética. Facultad Medicina Norte. Universidad de Chile.

La respuesta humoral de las cepas de ratones congénicos para H-2, A.Sw (H-2<sup>s</sup>) y A.CA. (H-2<sup>a</sup>), es cualitativamente diferente frente a inmunizaciones con I. cruzi presentado de acuerdo a tres protocolos (tripomastigotes sonicados, epimastigotes vivos y tripomastigotes vivos). En los tres casos la cepa A.Sw reconoce un polipéptido de 45 kDa en inmunoelectrotransferencia (IET) contra extractos totales de tripos o epis. La cepa A.CA consistentemente fracasó en reconocer a Tc45 y, al ser inoculada con tripos vivos, el 100% de los animales mueren de chagas agudo al cabo de 12 días de post-inoculación, situación que contrasta con los ratones A.Sw que sobreviven indefinidamente.

Tc45 ha sido purificada por electrofrecuencia de segmentos de poliácridamida y conserva sus propiedades antigénicas para la cepa A.Sw. Experimentos en curso muestran que Tc45 purificado es reconocido discriminativamente por sueros humanos positivos para I. cruzi. Intentamos, además, localizar Tc45 a nivel subcelular para proceder a su purificación seaipreparativa. Por último se realizaron experimentos de segregación a partir de cruzamientos entre A.CA y A.Sw, para definir formalmente la asociación entre H-2 y la capacidad de reconocer a Tc45.

Financiado por FONDECYT N°0191-88, DTI, U. de Chile N°M2901-8813 y UNDP/WORLD BANK/WHO 880198.

ANÁLISIS DE OCHO ALOANTÍGENOS ERITROCITARIOS DEL RATÓN LIGADOS A H-2. (Eight H-2-linked new alloantigens in the mouse). Ramos, A., Carreño, H. y Hoecker, G. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los antígenos de trasplante del complejo mayor de histocompatibilidad son abundantes en las células nucleadas y muy escasos o ausentes en los glóbulos rojos (GR) y el suero (Klein, 1965). El hallazgo de antígenos ligados a H-2, abundantes en los GR y presentes en el suero (Ramos et al 1987) nos llevó a buscar nuevos antígenos de este tipo. Para esto, inmunizamos con GR 11 combinaciones diferentes de dadores y receptores de las cuales algunas eran H-2-congénicas o congénicas-recombinantes y otras eran de cepas de diferente origen.

Los antisueros probados contra un panel de 10 cepas H-2-diferentes mostraron que los GR de 3 de ellas reaccionaban con un mismo patrón (A.CA anti-A; A.CA anti-B10.D2; A.CA anti B10.A) y otras 2 reaccionaban con un mismo patrón pero diferente a las anteriores. Los 6 antisueros restantes eran positivos para antígenos diferentes a los anteriores. En total, estos antisueros identifican, por lo menos, ocho antígenos celulares nuevos para el ratón. El análisis por absorción con GR de uno de estos antisueros, A.CA anti-B10, muestra que cuatro antígenos de B10 son compartidos con las cepas A/Sn, C3H, HTG y A.SW. El patrón de reacción de las cepas congénicas para H-2 permite postular que estos cuatro nuevos antígenos están determinados por genes ligados a H-2 cuya expresión en los GR difiere de los clásicos.

Se presenta el análisis molecular de estos antígenos utilizando DOT y Western Blotting, con segundo anticuerpo ligado a peroxidasa o radiomarcado con <sup>125</sup>I.

Financiado Proyecto Fondecyt 89-782

Proyecto D.T.I. B.2688-8934 U. de Chile.

DENSIDAD RELATIVA DE FELIDOS Y CANIDOS EN EL SUR DE CHILE. (Relative density of felids and canids in southern Chile). Rau, J. (1), Martínez, B. (2), Muñoz, A. (3), Azócar, R. (4) y Low, R. (1). Lab. de Ecol., I.P.O., Osorno (1), Inst. de Ecol. y Evol., UACH, Valdivia (2), Depto. CC.NM. P. Univ. Católica-Temuco (3), Depto. Educ., I. Municipalidad de Pto. Octay, Osorno.

Con objeto de iniciar monitoreos para detectar cambios en las tendencias anuales de las poblaciones de mamíferos carnívoros terrestres se utiliza el método de visitas a estaciones de atracción olfativas (Linhart y Knowlton. Wildl. Soc. Bull., 3: 119-124, 1975). A este método se le hicieron las siguientes modificaciones: a) empleo de diferentes sustratos artificiales (papel ahumado, tinta ecográfica, paste de yeso y aceite cubierta por plástico transparente sobre una base de madera pintada al óleo i.e. Estaciones transportables); b) utilización de orina de gato montés americano, obtenida comercialmente, saturando una tableta de yeso; c) transformación de la frecuencia de visitas (f) a densidad relativa (d), de acuerdo con la relación  $d = \ln(1 - f)$ .

Entre julio '88-julio '89 se efectuaron 19 muestreos válidos en 8 localidades situadas entre las provincias de Cautín y Llanquihue. Felis concolor fue registrado en 6 muestreos (32%) y en 3 localidades (37%); F. quigna en 4 (21%) y 2 (25%), respectivamente; Pseudalopex griseus en 5 (26%) y 2 (25%), respectivamente. En 9 muestreos (47%) se detectó al menos una de las tres especies. La frecuencia más alta de visitas ( $\bar{x} = 0,429$ ) se obtuvo en primavera.

Se estima que el diseño metodológico más apropiado para las condiciones climáticas del sur de Chile consiste en el empleo de un transecto conformado por 10 estaciones transportables, espaciadas 1000 mts. entre sí.

Estudio financiado por D.I. IPO y FONDECYT.

LA ESPASTICIDAD MODIFICA EL CITOESQUELETO DE AXONES HUMANOS. (The cytoskeleton of axons innervating spastic muscles is abnormal). Repetto, G., Vergara, J., U. Neurobiología Molecular, Fac. Ciencias Biológicas, UDA Ortopedia y Traumatología, Univ. Católica (Patrocinio: Alvarez, J.)

La hiperactividad aguda aumenta los microtúbulos ( $\mu$ t) axonales, o sea, los eventos iónicos de la membrana se acompañan de modificaciones del citoesqueleto axonal. Se estudió el efecto de la hiperactividad crónica sobre el citoesqueleto.

La espasticidad se caracteriza por una hiperactividad mantenida de las fibras motoras y propioceptivas. En pacientes espásticos suele efectuarse la neurectomía del obturador, así como en la displasia congénita de cadera, la que se asocia a músculos con actividad normal (controles). En nervios de 3 niños de cada condición se estudió los  $\mu$ t axonales con el microscopio electrónico.

En fibras amielínicas (sensitivas y autonómicas), la densidad fue de  $57 \pm 6$  y  $59 \pm 0 \mu$ t/ $\mu$ m<sup>2</sup> en los nervios controles y espásticos, respectivamente. Los axones mielínicos de  $3 \mu$ m corresponden a axones gama: los controles tenían  $18.7 \pm 1.1 \mu$ t/ $\mu$ m<sup>2</sup> y los espásticos,  $37.6 \pm 3.7$  (+100%). Las fibras de  $10 \mu$ m corresponden a fibras  $\alpha$  y propioceptivas de husos musculares: los controles tenían  $11.8 \pm 0.8 \mu$ t/ $\mu$ m<sup>2</sup> y los espásticos  $18.0 \pm 0.4$  (+53%). Las diferencias entre grupos son significativas.

El incremento selectivo de los microtúbulos de las fibras que inervan músculos espásticos indica que la hiperactividad crónica modifica la ultraestructura del axoplasma. En consecuencia, las demandas funcionales pueden regular la anatomía de la neurona.

EFFECTOS DEL EXTRACTO BUTANOLICO DE *Tropaeolum tuberosum* "mashua" EN CELULAS MERISTEMATICAS DE *Allium cepa* L. (Effects of *T. tuberosum* butanolic extract on *A. cepa* meristematic cells). Retuerto, F., González-Figueroa, N. y Llerena, G. Lab. Biología Celular. Inst. Inv. "Antonio Raimondi". Fac. Ciencias Biológicas. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

Es conocido que el extracto de *T. tuberosum* "mashua", tubérculo comestible de los Andes de Sud-América, contiene  $\beta$ -methoxybenzilglucosinolato como su mayor metabolito secundario, atribuyéndole esta sustancia propiedades citotóxicas y cancerostáticas. Con la finalidad de estudiar el efecto del extracto butanólico sobre la dinámica celular, se ha utilizado meristemos radiculares de *Allium cepa*.

Bulbos de *A. cepa* con raíces de 2-3 cms. de longitud, mantenidos a  $25 \pm 0.5^\circ$ C en agua aerada constantemente, se sumergieron en soluciones de extracto butanólico de "mashua" al 0.1% y 0.5% por 1, 3 y 6 hs. respectivamente, analizándose el índice mitótico (IM) y el índice de fases (IF) de la población meristemática en tratamiento.

El índice mitótico en las células meristemáticas que permanecieron en extracto butanólico (0.1%), desciende significativamente desde un IM=12.5 (1h) a un IM=2.1 a las 3 hs. decreciendo aún más IM=0.16 a las 6 hs. de tratamiento. Por otro lado, las células tratadas con extracto butanólico (0.5%) evidencian un marcado efecto citotóxico por la presencia de aberraciones cromosómicas del tipo de puentes anafísicos, puentes telofísicos y metafases adhesivas.

Los resultados sugieren que el extracto butanólico (0.1%) de *T. tuberosum* "mashua" ejerce su acción posiblemente sobre algún compartimiento del período interfásico alterando la dinámica celular de la población meristemática.

LOCALIZACION SUBCELULAR DE LA ENZIMA  $\gamma$ -GLUTAMIL TRANSFERASA EN *TRYPANOSOMA CRUZI*. (Subcellular localization of the enzyme  $\gamma$ -glutamyltransferase in *T. cruzi*). Repetto, Y., Moncada, G. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina y Departamento de Toxicología y Farmacología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La  $\gamma$ -glutamyl transferasa ( $\gamma$ -GTP) es una enzima importante en el metabolismo del glutatión (GSH) ya que inicia su degradación. La actividad catalítica se encuentra unida principalmente a la membrana plasmática, retículo endoplásmico y Golgi. Estudios bioquímicos previos en epimastigotes de *T. cruzi* de esta enzima indican que no se observa actividad cuando se utilizan parásitos intactos y al efectuar un fraccionamiento subcelular la actividad se encuentra en el citosol. Estudios citoquímicos al microscopio electrónico muestran la presencia de la enzima en la membrana citoplasmática, dentro de microcuerpos y en menor grado en el citosol. Para dilucidar esto se determinó la actividad de la  $\gamma$ -GTP en epimastigotes de *T. cruzi* en las siguientes condiciones: -Fijados con glutaraldehído a la concentración que se utiliza para los experimentos citoquímicos. -Rompimiento selectivo de membranas celulares por tratamiento con digitonina. -Fraccionamiento subcelular luego de ruptura en mortero.

Se observó que al fijar los parásitos con glutaraldehído se encuentra actividad  $\gamma$ -GTP lo que no sucede con los parásitos intactos. Los resultados con digitonina indican que la actividad se encuentra mayoritariamente en el citosol ya que a bajas concentraciones de digitonina (0.0mg/mg proteína) se encuentra la actividad soluble. De acuerdo a estos resultados y a los obtenidos por citoquímica y fraccionamiento subcelular esta enzima se encontraría ubicada en *T. cruzi* en dos compartimentos celulares, en el citosol y también en un organelo semejante a los glicosomas.

Financiado por: FONDECYT, O.E.A. y DTI U. de Chile.

MODIFICACION QUIMICA DE LA CISTEINA-128 DE FRUCTOSA-1,6-BISFOSFATASA CON REACTIVOS DE DISTINTO TAMAÑO (Chemical modification of cysteine-128 of fructose-1,6-bisphosphatase with reagents of different sizes). Reyes, A., Bravo, M. y Slebe, J.C. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

El bloqueo de cisteína-128 con N-etilmaleimida (NEM) insensibiliza de su inhibición por fructosa-2,6-bisfosfato (Fru-2,6-P<sub>2</sub>) a la fructosa-1,6-bisfosfatasa renal de cerdo (Reyes et al. J. Biol. Chem. 262, 8451, 1987). Para caracterizar el mecanismo de esta desensibilización, se propuso tratar la cisteína reactiva con modificadores de distinto tamaño, para distinguir el bloqueo de un residuo esencial de un efecto estérico inducido por el agente bloqueador.

La cisteína reactiva de la bisfosfatasa fue modificada específicamente con ditionitrobenzoato (DTNB), NEM y cianato, mientras un ciano-derivado se aisló por desplazamiento de tionitrobenzoato con KCN desde la enzima tratada con DTNB. En todos los casos se determinó una estequiometría de unión de 1 mol de reactivo por mol de monómero y la enzima tratada con NEM o cianato no reacciona con DTNB, apoyando la idea que los reactivos reaccionan con el mismo grupo SH.

Un nivel de 100 veces el I<sub>50</sub> para Fru-2,6-P<sub>2</sub> de la enzima nativa sólo indujo un 35% de inhibición en los derivados DTNB- y NEM-enzima. En contraste, el bloqueo con cianato afectó levemente a la inhibición, mientras el CN-derivado no mostró diferencias con la enzima nativa. En todos los casos, el bloqueo de la cisteína reactiva no alteró los valores de K<sub>m</sub> o I<sub>50</sub> para el inhibidor alostérico AMP.

Los resultados indican que la desensibilización es claramente dependiente del tamaño del modificador empleado. Luego, cisteína-128 estaría cerca del sitio de unión para Fru-2,6-P<sub>2</sub>, de manera que la desensibilización de la enzima se explicaría mediante impedimento estérico (Financiado por proyectos: DIC-UACH, 8-89-37; FONDECYT, 188/89).

**MADUREZ SEXUAL Y FOLICULOGENESIS POSTNATAL EN PUDU PUDA (MOLINA) (MAMMALIA, CERVIDAE)** (Sexual Maturity and Postnatal Folliculogenesis in Pudu puda) Reyes, E., Alborno, J., Medina, V., Vejar, X., Coloma, L., Acuña, A. Fac. Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Depto. Biología Molecular, Universidad de Concepción. (Patrocinio G. Cea).

Pudu puda, ciervo enano, endémico del sur de Chile en la actualidad está considerado como especie vulnerable, de la cual no existe información respecto de su gónada femenina. Observaciones previas de animales en cautiverio han permitido determinar que las hembras nacidas en primavera al año de vida alcanzan un fenotipo del adulto la madurez sexual la alcanzan entre los 15 y 18 meses de edad y a los dos años nacen de ellas sus primeras crías.

En relación con la gónada y con el fin de visualizar el estado madurativo de ella se analizaron ovarios de hembras recién nacidas, de 3, 6 y 12 meses; en hembras adultas se observó cortes histológicos de hembras en período de celo, gestante y parturienta. Todo el material se fijó para su análisis por microscopio fotónico, en Bouin y se realizó la técnica histológica de inclusión en parafina.

Los resultados indican que las dimensiones promedio de los ovarios de recién nacido fueron de 4 x 1.5 mm y el de adultos de 9 x 4 mm.

Los ovarios de recién nacidos mostraron abundante cantidad de folículos primordiales como ocurre en otros mamíferos; pasado los 6 meses de edad la gónada mostró la presencia de antro en varios de sus folículos y en los adultos se destaca la presencia de folículos maduros en ovarios obtenidos en el período de marzo-abril, época que coincide con la actividad sexual de la especie y la presencia de abundante cantidad de espermatozoides en los machos.

Proyecto 20.30.09 CONAF, VIII REGION  
Proyecto 20.31.16 DIC, Universidad de Concepción

**EFFECTOS BIOLÓGICOS DE ACEÍTES MARINOS Y FUNCION PEROXISOMAL.** Biological effects of fish oil and peroxisomal function. Reyes, R., Solís de Ovando, F., del Valle, R., Miquel, A., Barriga, C., Velasco, N., Vera, G., Arteaga, A., Leighton, F., y cols. Departamento de Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile y Depto. de Nutrición, Universidad de Chile. (Patrocina: L. Vargas)

Los aceites marinos son ricos en ácidos grasos poliinsaturados n-3 de cadena larga, (PUFA n-3); principalmente EPA (20:5 n-3) y DHA (22:6 n-3). EPA y DHA mediarían las respuestas biológicas que se le atribuyen al aceite. Nos interesa evaluar el efecto del aceite de pescado nacional a nivel de: función peroxisomal, lípidos, y eicosanoides. Se han iniciado observaciones en ratas y se continuarán en humanos. En ratas hemos realizado mediciones con 5, 10 ó 18% de grasa en la dieta, y con razones n-3/n-6 de 0,2; 1,0 y 5,0, por 3 semanas: Se observó que al aumentar la razón n-3/n-6 en la dieta, aumentó la incorporación de EPA y DHA a fosfolípidos de membrana de glóbulos rojos y de plaquetas y que Tx<sub>B2</sub> en suero, disminuye. Triglicéridos y colesterol séricos no se modificaron. La oxidasa peroxisomal de ácidos grasos, marcador de la capacidad oxidativa del organelo, aumentó, correlacionando con el nivel de incorporación de PUFA n-3. Se confirma así que EPA y DHA se incorporan a fosfolípidos de membrana, modifican la síntesis de eicosanoides, y se confirma nuestra hipótesis de que los peroxisomas participan en la respuesta biológica a la administración de aceite de pescado en la dieta. (Financiado por Proyectos FONDECYT 250/88 y PNUD CHI/88/017).

**CAMBIOS MORFOLÓGICOS Y FUNCIONALES DEL INTERSTICIO TESTICULAR DURANTE LA PUBERTAD DEL MONO CEBUS.** (Morphological and functional changes in testicular interstitial cells during puberty in the Cebus monkey). Rey, R., Campo, S., Maggi, J. E., Nagle, C., Chang, H. División de Endocrinología, Hospital de Niños R. Gutiérrez y CEMIC, Bs. Aires. Nuestro objetivo fue estudiar la maduración intersticial del testículo durante el período puberal en primates. Estudiamos 2 grupos de monos Cebus: G1 representó el comienzo de la pubertad (edad=2±0.2 años, volumen testicular=0.27±0.03 ml) y G2, el fin de la misma (edad=6.25±0.5, vol. testic.=1.53±0.38). El volumen ocupado por las células de Leydig aumentó 142.8% en el período estudiado (G1=0.07±0.01 ml, G2=0.17±0.04). Histológicamente se observó células de Leydig maduras e inmaduras en ambos grupos, en proporciones diferentes. El número total de células de Leydig por testículo aumentó 111.8% (G1=41.6±10.2 x 10<sup>6</sup> cels., G2=88.2±27.9 x 10<sup>6</sup> cels.). El volumen medio de las células de Leydig (maduras e inmaduras) mostró un pequeño aumento del 15.6% que no fue significativo (G1=1678 ±431 μm<sup>3</sup>, G2=1940±283). Para evaluar la función intersticial realizamos incubaciones de tejido testicular y medimos liberación de andrógenos (T+DHT). La T+DHT liberada al medio fue de 363±104 ng/h/testículo en G1 y 309 ±169 en G2, y de 8.1±1.0 pg/h/10<sup>6</sup> cels. en G1 y 4.1±2.3 en G2. El estudio morfológico con microscopía electrónica mostró ya en G1 células con retículo endoplásmico liso y mitocondrias con crestas tubulares. En G2 mostró además células de citoplasma denso con escaso retículo endoplásmico y mitocondrias con crestas transversales. Los datos presentados muestran que durante la pubertad del mono Cebus, el volumen intersticial crece debido a un aumento en el número y en menor medida en el tamaño medio de las células de Leydig (maduras e inmaduras). Estas células son activas ya desde el comienzo del período puberal. La menor liberación de andrógenos por célula de Leydig en el grupo de fin de pubertad podría explicarse por la heterogeneidad celular del intersticio con la presencia de una subpoblación de células en reposo o menor actividad funcional.

**INMUNOLocalización DE FOSFOLIPASA A2 EN ESPERMATOZOIDES DE MAMÍFEROS.** (Immunolocalization of FLA2 in mammalian spermatozoa). Riffo M., Gómez Lahoz E., Esponda P. Dpto. Biología Celular y Genética, Fac. Medicina, U. de Chile y SCIB., CSIC, Madrid, España.

La fosfolipasa A2 (FLA2) es una enzima dependiente de Ca<sup>++</sup> asociada a la(s) membrana(s) del espermatozoide de mamíferos y que se ha vinculado a los eventos moleculares conducentes a la reacción del acrosoma (RA) a través de sus productos de reacción. El reconocimiento de esta participación la relacionan con estructuras de la región anterior de la cabeza del espermatozoide (membrana plasmática y/o acrosómica externa). Con el objeto de aclarar su posible localización se realizó el presente estudio usando anticuerpos específicos contra FLA2 de páncreas de porcino inducido en conejo. Luego de purificar las IgGs anti-FLA2 se realizaron estudios inmunocitoquímicos mediante microscopía óptica (PAP) y MET (oro coloidal). Los resultados obtenidos muestran reacción positiva preferentemente en la región anterior de la cabeza de espermatozoides de la cauda epididimaria de hamster y eyaculados de conejo. Por otra parte, utilizando las IgGs anti-FLA2 en Test de aglutinación de espermatozoides de hamster o de conejo se comprobó que esta aglutinación es siempre cabeza-cabeza, fenómeno que no se observa al incubarlos en presencia de fragmentos Fab. Los resultados permiten precisar una localización preferencial de esta enzima en la región anterior de la cabeza del espermatozoide, hecho concordante con su participación en los eventos que preceden a la fecundación. Estudios futuros tratarán de precisar su función utilizando fragmentos Fab tanto en la inducción de la RA "in vitro", como en la fecundación homóloga o heteróloga.

Convenio C.S.I.C y U. de Chile.

CULTIVO DE TEJIDO "in vitro" DE VACCINIUM SP. I: METODOS DE DESINFECCION DE EXPLANTES. (In vitro tissue culture of Vaccinium sp. I: Sterilization methodology of explants). Ríos, D., Pulgar, I., Uribe, A., y Venegas, L. Departamento de Ciencias Agronómicas Básicas, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Facultad de Educación y Humanidades, Universidad de la Frontera - Temuco.

*Vaccinium sp.* (arándano) son unos de los pocas especies frutales introducidas en que la propagación "in vitro" puede realizarse exitosamente, tanto desde el punto de vista técnico como del comercial. La tasa de multiplicación es dependiente de la especie y variedad, lo mismo que la habilidad para crecer "in vitro".

El presente estudio tiene como finalidad determinar el método de desinfección mas eficiente de explantes de *Vaccinium sp.*

Estos fueron obtenidos a partir de plantas donadoras cultivadas en invernadero. De estas se utilizaron trozos de tejido internodal, los cuales fueron sometidos a diferentes pre-tratamientos (alcohol 95%, Clorex 2%) y tratamientos de desinfección (Clorex 5% y 10%, HgCl 0,1% entre otros). Luego fueron cultivados en medio base sólida (W.PM) para su proliferación. Se realizaron 10 repeticiones por tratamiento.

Los primeros resultados indican que aquellos explantes sometidos a pre-tratamiento de desinfección no presentaron contaminación, en cambio, aquellos tratados directamente con clorex 5% y 10% entre otros, presentaron una contaminación aproximada de 60% del total de tubos sembrados por tratamiento.

PROYECTO DIDUFRO - 901- 88- 89.

IDENTIFICACION DE CELULASAS EN EL *G. applanatum*, AGENTE PRINCIPAL DEL "PALO PODRIDO". (Identification of cellulases in *G. applanatum*). Ríos, S. y Eyzaguirre, J. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago.

El bacidiomicete *Ganoderma applanatum* es el componente principal del ecosistema llamado "palo podrido". En el "palo podrido" ocurre una degradación selectiva de la lignina, sin destrucción de la celulosa, lo que puede tener aplicación biotecnológica. Es de interés determinar si el *G. applanatum* produce celulastas o si estas están inhibidas en el "palo podrido".

Se utilizaron varios medios de cultivo, sólidos y líquidos (estacionarios y en agitación) para analizar la presencia de enzimas y el efecto de algunos parámetros sobre su producción (fuente de carbono y nitrógeno, temperatura, etc.). Se determinó la presencia de endoglucanasa, exoglucanasa y  $\beta$ -glucosidasa usando sobrenadantes de cultivos líquidos, cultivos en placa y micelio homogeneizado.

Se detectó actividad endo- y exoglucanásica en cultivos sólidos y líquidos estacionarios del hongo. La  $\beta$ -glucosidasa aparece en muy baja cantidad en los sobrenadantes, observándose en mayor cantidad en extractos de micelio, lo que indica que es poco secretada al medio. La endoglucanasa es la que muestra niveles más altos. En condiciones de déficit de nitrógeno se inhibe la producción de celulastas, coincidiendo con las condiciones descritas para el "palo podrido".

En conclusión, el *G. applanatum* produce celulastas, que están reprimidas o inhibidas en el "palo podrido".

Financiamiento: proyectos de Enlace CONICYT 1988 y FONDECYT 89-0580.

FECONDACION Y DESARROLLO EMBRIONARIO IN VITRO DE OVOCITOS DE BOVINO MADURADOS IN VITRO (In vitro fertilization and embryonic development of in vitro matured bovine oocytes). Risopatrón, J., Del Campo, M. y Del Campo, C. Depto. Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco. Instituto de Reproducción Animal, Universidad Austral de Chile, Valdivia. (Patrocinio: M. Bretos A.)

El objetivo de este estudio fue determinar las tasas de fecundación y desarrollo de ovocitos de bovino recuperados desde ovarios de hembras sacrificadas en matadero. Los ovocitos fueron recuperados por aspiración desde folículos a 5 mm. Sólo ovocitos rodeados de un cúmulo intacto y compacto y un citoplasma uniformemente granulado fueron seleccionados, y colocados en cultivo de maduración en TCM-199 suplementado con 10% SFB antibióticos durante 24 horas en un incubador (5% CO<sub>2</sub> y 95% humedad) a 38°C.

Semen congelado, obtenido de epidídimo, fue descongelado (37°C) y lavado en solución BO (Brackett & Oliphant, 1975) suplementada con cafeína y preincubado por 5 h en solución BO que contenía albúmina sérica de bovino y cafeína antes del cocultivo con los ovocitos. Seis horas post-inseminación los ovocitos fueron trans feridos al medio de desarrollo y cultivados. Las tasas de fecundación y desarrollo embrionario fueron evaluadas (en microscopio de contraste de fase) a las 18 y 48 horas post-inseminación respectivamente.

La tasa de penetración de los ovocitos fue de un 71,4% (30/42), un 66,7% (28/42) presentaron formación de ambos pronúcleos y cola del espermio. Poliespermia fue exhibida en 6,7% (2/30) del total de ovocitos penetrados. La tasa de desarrollo embrionario a las 48 horas (post inseminación) fue de 61% (163/269), los embriones alcanzaron estados de desarrollo entre 2 y 8 células. Los resultados obtenidos en esta investigación estimulan a desarrollar esta técnica utilizando ovocitos inmaduros de hembras post-mortem.

DOMINIOS CON SIGNIFICADO FUNCIONAL EN LA PROTEINA ASOCIADA A MICROTUBULOS, TAU. (Functionally-significant domains in the associated protein tau). Rivas-Barríos, A., Cross, D. and MacCioni, R.B. International Center for Cancer and Developmental Biology, Santiago, Chile.

Las proteínas asociadas a los microtúbulos (MAPs) son componentes esenciales en la compleja regulación del ensamblaje de los microtúbulos y en la integridad del citoesqueleto. Tau, uno de los componentes de las MAPs (66-68kDa) presenta una región conservada que contiene 3 secuencias de 18 aminoácidos con una alta homología entre sí. Demostramos previamente que péptidos sintéticos que definen sitios de unión de MAPs en el dominio C-terminal de la tubulina,  $\alpha$ (430-441) y  $\beta$ (422-434), se unen en forma cooperativa a 3-4 sitios en tau. Inmunización de conejos con estos péptidos regulatorios de la tubulina nos permitió obtener anticuerpos anti-idiotípicos ( $\alpha$  y  $\beta$ -Ab2) que interactúan específicamente con los epitopes de MAPs responsables de su unión a la tubulina.

Hemos estudiado los aspectos moleculares de la interacción de tau con tubulina y con otras proteínas. Los dominios de tau involucrados en su unión a microtúbulos fueron analizados utilizando los anticuerpos Ab2. Estos estudios revelan una interacción específica de estos anticuerpos con tau y con el péptido sintético de tau Val187-Gly204 (VRSKIGSTENLKHFGGG). Estudios utilizando Ab2 además de anticuerpos contra el péptido de tau indican que tau y la proteína de alto peso molecular MAP-2 comparten determinantes antigénicos comunes a nivel de sus respectivos dominios de unión a tubulina. Por otra parte estudios bioquímicos indican que el péptido de tau Val218-Gly235 (VTSKQSLGNLHHPGGG) constituye un sitio de unión para tubulina y para calmodulina. Los estudios sugieren que las secuencias repetitivas contenidas en los péptidos de tau definen dominios de tau involucrados en su interacción con tubulina.

DESPLAZAMIENTO DEL CARACTER EN DOS ESPECIES SIMPATRICAS DEL GENERO PTEROPTOCHOS (FAM. RHINOCRYPTIDAE: AVES) (Character displacement in two sympatric species of the genus Pteroptochos (Fam. Rhinocryptidae: Aves). Riveros, G.G., Depto. de Biol. y Qca., Fac. de Cs. Nat. y Ex., Universidad de Playa Ancha de Cs. de la Educación.

El género Pteroptochos es endémico del cono Sur de Sudamérica distribuyéndose en Chile y Sur de Argentina con tres especies, *P. tarnii*, *P. castaneus* y *P. megapodius*, las dos últimas son simpátricas en la zona comprendida entre Colchagua y el Rfo Bio-Bio, son especies crípticas, diferenciándose en estado adulto por variaciones del color de sus gargantas. Hay antecedentes que han manifestado dudas sobre la necesidad de que estas especies sean realmente tales según el concepto de Mayr. Recientes estudios de campo y experimentales han usado las vocalizaciones como un carácter sistemático, considerando el canto como un factor determinante de los límites de la especie y como un carácter de relación evolutiva entre especies afines. Se realizaron grabaciones y se analizaron físicamente los cantos y gritos de alarma de las especies de este género determinándose diferencias específicas a través del proceso evolutivo desplazamiento del carácter de las estructuras que componen el canto y gritos de alarma de estas especies, como el número de notas, frecuencia de emisión entre otros.

ACTIVIDAD DE LOS POLINIZADORES EN ALGUNAS ESPECIES DEL BOSQUE VALDIVIANO, OSORNO, X REGION, CHILE (Pollinators activities of some species in the valdivian forest, Osorno, X Región, Chile). Riveros, M. y A. M. Humaña. Instituto de Botánica, Universidad Austral de Chile.

La fecundidad de las especies depende de la interacción planta-polinizador, siendo la actividad y abundancia del polinizador un factor que incide directamente en la producción de semilla. La sincronización entre la emergencia de los polinizadores y la fase de floración, la especificidad del polinizador y el desarrollo de atractantes (pólen, néctar) son parte de un dinámico sistema coevolutivo entre planta y polinizador (HEINRICH y RAVEN 1972). Se pretenden determinar: agentes bióticos de polinización, polinizadores específicos de las plantas, factores microclimáticos que los afectan.

Los registros de la actividad de los polinizadores se efectuó en bloques de 10 minutos, durante todo el día y en el período de máxima floración según metodología de ARROYO et al. 1982.

La actividad y riqueza de los polinizadores en general es baja (ARROYO et al. 1982 - 1985, HERRERA 1988). Especies con polinizadores específicos son escasos, la mayoría son "generalistas". Los resultados se relacionan con las fases de floración y su sistema de reproducción.

DIDUACH RS - 85 - 42 ; FONDECYT 1041

COLINESTERASAS EN UTERO DE RATON: FUNCION SOBRE LA CONTRACTILIDAD UTERINA (Mouse uterus cholinesterases: Functions on the uterine contractility). Roa, A., Medina, J.L., Oliveros, H., Sempendörfer, R. y Neumann, V. Depto. Cs. Fisiol., Fac. Cs. Biol. y de Rec. Nat., Universidad de Concepción.

Hemos demostrado que acetilcolina (ACh) es capaz de modificar la contractilidad del útero de ratón.

En este trabajo se determinó la actividad de colinesterasas correlacionándola con el efecto "in vitro" de ACh sobre la contractilidad uterina. Los estudios se realizaron en fase estro y diestro, gestación y después del parto. La actividad enzimática de butiril (BuChE) y acetilcolinesterasa (AChE) fue determinada por el método de Ellman. La acción de la inhibición de las colinesterasas sobre el efecto de ACh en la contractilidad uterina fue determinada comparando las áreas bajo la curva de la acción contráctil de ACh en ausencia y presencia de fisostigmina.

Se encontró una fracción colinesterásica hidrosoluble y otra extraída con fuerza iónica alta o heparina. Ambas fracciones fueron inhibidas por  $10^{-6}$  M ISO-OMPA y muy poco por  $10^{-6}$  M BW, son mayores en diestro que en estro y disminuyen a medida que progresa la gestación, es más, la segunda fracción desaparece y recupera su actividad a los cuatro días después del parto. El efecto contráctil inducido por ACh, en ausencia de fisostigmina, es mayor durante la gestación > estro > diestro, en cambio, al compararlo en presencia de fisostigmina, se observan mayores diferencias en diestro > estro > gestación.

Estos resultados nos permiten concluir que en el útero de ratón: a) la colinesterasa predominante es la BuChE en vez de ACh b) se sugiere la existencia de una BuChE asimétrica de la clase A<sub>1</sub> y c) existen variaciones en la actividad de estas BuChE a lo largo del ciclo sexual, la gestación y después del parto, hecho que además se correlaciona con el efecto de ACh sobre la contractilidad uterina, lo que permite postular un rol fisiológico para estas enzimas a nivel del músculo uterino.

Proyecto 22.33.39 y 22.33.28 Dirección de Investigación

HALOPERIDOL POTENCIA EL EFECTO ESTIMULATORIO DE ESTROGENO SOBRE CALICREINA HIPOFISIARIA. (Haloperidol enhances the stimulatory effect of estrogen on pituitary kallikrein). Roa, J., Vio, C.P. Depto. Ciencias Fisiológicas. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

La Calicreína tisular (EC 3.4.21.35) (CAL) es una proteasa de 38 Kd que tiene múltiples funciones. Usando inmunocitoquímica hemos descrito su presencia en la hipófisis anterior de rata e identificado al tipo celular que la contiene como las células productoras de Prolactina (PRL).

Dado la colocación de CAL y PRL en el mismo tipo celular el objetivo de este trabajo fue estudiar si la CAL hipofisiaria es regulada por mecanismos estrogénicos y dopaminérgicos similares a los que regulan PRL.

Para el estudio se utilizaron ratas hembras castradas tratadas con vehículo, diferentes dosis de estrógeno E<sub>2</sub> (5, 10, 50, 100 ug/rata x 10 días) o Haloperidol (H) (2.5 mg/kg x 8 días) y una combinación de E<sub>2</sub> y H. Las hipófisis se fijaron en Bouin y se incluyeron en paraplast y metacrilato. La tinción inmunocitoquímica se realizó usando anticuerpos anticalicreína de acuerdo al método de Stenberger.

La inmunocitoquímica reveló en las hipófisis de ratas tratadas con E<sub>2</sub> un aumento dosis dependiente tanto en el número de células inmunoreactivas como en la cantidad de calicreína, efecto que fue potenciado por el tratamiento simultáneo con H. Independientemente del tratamiento la localización de calicreína estuvo restringida a los lactotrofos.

Los resultados demuestran que la presencia de CAL en la hipófisis, al igual que PRL, es dependiente de E<sub>2</sub> y este efecto estaría modulado por mecanismos dopaminérgicos inhibitorios, y sugieren una contribución de CAL a la función hipofisiaria.

Financiado por Fondecyt 346/89 y Dirección de Postgrado Pontificia Universidad Católica de Chile.

**INDUCTORES DE LA RESPUESTA DE Citrus A INFECCION POR HONGOS PATOGENOS (Elicitors in the response of Citrus to infection by pathogenic fungi).** Roco, A., Pérez, L. M., Depto. Biol. Mol., Fac. Cs. Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Las plantas superiores responden a la infección por hongos patógenos induciendo sistemas enzimáticos para la producción de fitoalexinas. Evidencias recientes indican que los inductores serían oligosacáridos, producto de la hidrólisis de la pared celular vegetal por enzimas del hongo.

Plántulas de Citrus se trataron con pectinasa de Alternaria chlamydospora, y los oligómeros producto de la hidrólisis enzimática se separaron por cromatografía de intercambio iónico en DEAE-Sephadex A-25 usando un gradiente cóncavo de fuerza iónica. Las fracciones se filtraron por Sephadex G-10 para estimar el tamaño molecular de los oligosacáridos. La columna se calibró usando polietilenglicol de diferentes grados de polimerización.

Las fracciones obtenidas tenían una masa molecular en un rango de 3.600 a 18.900, equivalente a 17 y 89 unidades de ácido galacturónico. Estas se probaron como inductoras de la actividad de fenilalanina amonio liasa (PAL) en plántulas de cítricos, las que se comparan con el efecto inductor producido directamente por el hongo.

Trabajo financiado por FONDECYT (157/88), IFS (C/1139-1) y DTI-U. Chile (B 2950-8813).

**DISECCION DEL ESPERMATOZOIDE DE Rhynchocinetes typus.** (Dissection of Rhynchocinetes typus spermatozoa).

Roco, A. y Dupré, E. Lab. Embriología Fac. de Ciencias Biológicas, P. U. Católica de Chile y U. del Norte, Sede Coquimbo.

Con el propósito de determinar el rol que cumplen las diversas estructuras sub-celulares del espermatozoide (sp) en la fecundación se iniciaron estudios destinados a aislar y posteriormente caracterizar los diferentes componentes espermáticos. El presente estudio desarrolla un método de disección del sp mediante procedimientos físico-químicos. La pieza de articulación (PA), una estructura electrón-densa, resistente a la solubilización a altas y bajas fuerzas iónicas dadas por el agua de mar y agua tridestilada, a la sonicación y al tratamiento con SDS y Triton X, fue aislada mediante incubación de sp en buffer Tris-Mg pH 7.4, SDS 0.1%, DNAsa I y purificación por gradiente discontinuo de sacarosa. Los componentes proteicos de la PA se aislaron electroforéticamente. Se observó 3 bandas cuyos PM aparentes fueron 58, 68, y 75 Kd. En cambio entre las proteínas totales del sp se destacan 10 bandas principales cuyos PM varían entre 29 y 200 Kd. El tratamiento con DTT en presencia de SDS a 90 C por 1 min produce la solubilización de la PA, lo que sugiere una estabilización por uniones S-S. Financiado por FONDECYT 495/89 y Grant de la Fundación Rockefeller al Dr. Claudio Barros.

**SINTESIS DE PROTEOGLICANOS Y ACIDO HIALURONICO POR CELULAS DE ESTROMA DE TESTICULO.** (Synthesis of proteoglycans and hyaluronic acid by long-term cultures of stromal testicular cells). Rodríguez, J.P. y Minguell, J.J. Unidad de Biología Celular, INTA. U. de Chile.

Los componentes de matriz extracelular regulan la adhesión, los patrones biosintéticos, la migración y la proliferación celular. En este trabajo se presentan resultados sobre síntesis y caracterización de proteoglicanos (PG) y ácido hialurónico (HA) producido por células de estroma de testículos provenientes de ratas inmaduras y púberes. Para estos estudios se utilizan cultivos de largo término de células testiculares, las cuales se cultivan en medio 199 suplementado con suero fetal (12%), suero de caballo (12%) e hidrocortisona (10<sup>-7</sup> M) a 33 C en 5% CO<sub>2</sub>. En estas condiciones se establece una capa de células adherentes (estroma) y permanecen en suspensión las células germinales. Las células de estroma se incuban con 3H-glucosamina para estudiar síntesis de PG y HA asociados a las fracciones extracelular, membrana e intracelular. Por análisis en columnas de Sepharosa CL-4B y DEAE-Sephacel y tratamientos enzimáticos se determinó que las células de estroma sintetizan un PG mixto (heparan y condroitin sulfato) y otro PG que contiene solo condroitin sulfato. No se observan diferencias en los tipos de PG sintetizados por células provenientes de ratas inmaduras o púberes. Sin embargo, se observan diferencias significativas en los patrones de distribución celular de PG y HA. Se discute la importancia de estos hallazgos en la regulación de la espermatogénesis.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 89-990 y Proyecto DTI # 1720.

**BLOQUEO REVERSIBLE DE LA FORMACION DE LA FIBRA DE REISSNER (FR) POR UNA SOLA INYECCION AL LIQUIDO CEFALORRAQUIANO (LCR) DE ANTICUERPOS CONTRA EL MATERIAL SECRETORIO DEL ORGANISMO SUBCOMISURAL (OSC).** (Reversible blockage of Reissner's fiber by a single injection into CSF of antibodies against the secretory material of the subcommissural organ). Rodríguez, S., Rodríguez, E.M. Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Un anticuerpo contra las glicoproteínas de la FR llamado AFRU, se inyectó en 30 ratas con el fin de interferir con la formación de FR. Las ratas se mataron al tiempo 0, 20 min, 1, 2, 8, 12 hrs; 1, 2 y 3 ds después de la inyección.

Se sabe que el material secretado por el OSC hacia el LCR, primero se condensa sobre la superficie del OSC como una pre-FR, luego en FR; ambas estructuras son distinguibles en cortes de OSC. Se aplicaron 3 métodos de inmunotinción para visualizar: a) material secretorio no unido al AFRU; b) complejos material-AFRU formado in vivo; c) AFRU no unido a sus antígenos y presente en los ventrículos y espacio subaracnoideo.

Los resultados mostraron: 1) AFRU estaba presente en las cavidades del cerebro al menos 8 hrs; 2) AFRU estaba unido selectivamente a la pre-FR; 3) la pre-FR mostró AFRU unido 24 hrs después de la inyección. A los 2 y 3 ds post-inyección la pre-FR estaba libre de AFRU, indicando que estaba formada por material recién secretado y no alcanzaba el acueducto de Silvio; 4) 4 hrs post-inyección, la FR estaba desprendida del OSC y fragmentada; e) en ratas de 1 a 3 ds la FR estaba ausente en el canal central medular.

Se concluye que una sola inyección de AFRU conduce a un bloqueo inmunológico de la formación de la FR. Este efecto es reversible.

**SINDROME DE DOWN: REPARACION DEL DAÑO ESPONTANEO E INDUCIDO DURANTE G2 EN LINFOCITOS CULTIVADOS "IN VITRO".** (Down's syndrome: G2 repair of spontaneous and induced damage in lymphocytes culture "in vitro").  
Rodríguez, M. y Pincheira, J. Depto. Biol. Cel. y Genética, Fac. Medicina, Universidad de Chile.

El Síndrome de Down está asociado a malformaciones congénitas, radiosensibilidad, alta incidencia de leucemia y envejecimiento prematuro. Estos antecedentes sugieren la existencia de algún trastorno en la reparación del daño en el DNA que opera durante G2 y que involucra básicamente 2 vías cooperativas: A) El control de la parada G2 y B) Los mecanismos de reparación del daño en el DNA. El tratamiento con cafeína durante G2 inhibe ambas vías, poniendo en evidencia las lesiones presentes en esta etapa y permitiendo evaluar la capacidad reparativa del sistema.

Para analizar la capacidad de reparación del daño espontáneo e inducido en pacientes con S. de Down comparamos el efecto de cafeína y duración de G2 en linfocitos normales y Down con y sin lesionar con rayos X.

Los resultados obtenidos mostraron que: 1) La cantidad de lesiones presentes en G2 y la duración de esta etapa es mayor en linfocitos Down que en normales. 2) La cantidad de aberraciones cromosómicas inducidas por rayos X es mayor en linfocitos Down. 3) El porcentaje de lesiones reparadas en Down es menor (72%) que en normales (84%). Estos resultados estarían indicando la existencia de una capacidad de reparación disminuida en linfocitos Down respecto de normales en la etapa G2, lo cual podría obedecer a una alteración en los mecanismos de reparación del daño en Down.

Proyecto B-2686 D.T.I., U. de Chile.

**MODIFICACION DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA (PEPCK) DE RATA CON REACTIVOS ALQUILANTES FLUORESCENTES.** (Modification of Rat liver Phosphoenolpyruvate Carboxykinase by fluorescent alkylating agents). Rojas, M.C. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Departamento de Química, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile.

La enzima gluconeogénica que carboxila al fosfoenolpiruvato en el hígado de rata (PEPCK), es una proteína monomérica que requiere en forma específica GDPMN como sustrato. Esta enzima es muy sensible a la oxidación y se inactiva en presencia de metales pesados, ya que contiene 3 pares de tioles que se encuentran cercanos en la estructura terciaria y forman fácilmente puentes disulfuro. El grupo SH que corresponde a la Cys 288 es especialmente reactivo y estaría ubicado en una región hidrofóbica del sitio activo de la enzima.

Como parte de un estudio enfocado a caracterizar el sitio activo de la PEPCK, ésta se purificó desde el hígado de rata y se hizo reaccionar con los reactivos alquilantes y fluorescentes 1,5-I AEDANS y N-(1-Pireno yodoacetamida) (NPI). La incubación de la enzima a 0° con un exceso molar de 5 veces de los modificadores, llevó a la pérdida de un 95% de la actividad enzimática. La reacción fue muy rápida y llegó a término en 2 minutos bajo condiciones de pseudo primer orden. El complejo GDPMN protege totalmente de la inactivación por 1,5-I AEDANS y NPI, en tanto que los otros sustratos protegen parcialmente o no afectan la velocidad de inactivación. Estos resultados sugieren que la enzima se ha modificado en el sitio activo.

Se trabaja en la caracterización de las propiedades fluorescentes de la PEPCK modificada con ambos reactivos.

\* En colaboración con los Drs. E. Cardemil y M.V. Encinas, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile. Trabajo financiado por FONDECYT proyecto 88-1060.

**EFFECTO TOXICO DEL FITOPLANCTON DE LA LAGUNA DE ACULEO.** (Toxic effect of phytoplankton from Aculeo Lake).  
Rojas C., M., Peñaloza, R., Nuñez, M.T., Zambrano, F. Deptos de Biología, Facultades de Ciencias, Universidad de Chile y U. Metropolitana de Ciencias de la Educación.

En la Laguna de Aculeo, la muerte esporádica de peces es coincidente con la proliferación de la cianobacteria *Microcystis* sp., e incrementos de temperatura.

Por homogenización de fitoplancton y procesos de purificación de una fracción celular soluble y tóxica para organismos acuáticos, se ha logrado obtener un componente 4850 veces más activo que la fracción de origen. Con la finalidad de dilucidar posibles mecanismos de acción de esta toxina, hemos estudiado en su presencia la incorporación de hierro en reticulocitos de conejo, proceso mediado por un mecanismo de endocitosis del complejo transferrina-receptor, con participación del citoesqueleto.

Los resultados muestran que el componente tóxico inhibe la etapa de internalización de transferrina, no siendo afectada la etapa de externalización de ésta. La unión de transferrina férrica a receptores de superficie no fue afectada. Tratamiento de los reticulocitos con toxina no produjo cambios en los niveles de ATP, por lo que un efecto de la toxina sobre los procesos celulares de producción de éste pueden ser descartados.

Los resultados sugieren un posible efecto de este componente tóxico a nivel de la membrana plasmática y del citoesqueleto. Cultivo de la cianobacteria *Microcystis* sp., que están en marcha, permitirán establecer definitivamente su participación en estos procesos.

(Financiado por FONDECYT 178/88 y D.T.I. B2811-8813).

**METILACION DEL DNA EN *Trypanosoma cruzi*. SU RELACION CON PROLIFERACION CELULAR.** (DNA methylation in *T. cruzi*. Its relationship with cell proliferation).  
Rojas, M.V. y Galanti, N. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

*T. cruzi* es un protozoo patógeno del hombre; produce la enfermedad de Chagas, serio problema de salud pública en Latinoamérica.

Su ciclo de vida presenta 3 formas: amastigote, epimastigote y tripomastigote, con diferentes características morfológicas, reproductivas e infectivas. Estos cambios de forma deben estar genéticamente regulados. En este contexto, hemos estudiado en *T. cruzi* un mecanismo de regulación génica: la metilación del DNA.

El tratamiento de cultivos de *T. cruzi* (epimastigotes) con 5-azacitidina (agente hipometilante análogo de citosina), estimula la proliferación celular. Este resultado sugiere presencia de metilcitosina (mC) en el DNA de *T. cruzi*. La droga no altera diversos parámetros y no induce diferenciación a tripomastigotes.

DNA de epimastigotes marcado con metionina metil-H3, presenta mC pero no metiladenina, que tampoco se evidencia marcando con adenosina-H3.

La digestión del DNA de *T. cruzi* con Hpa II y Nsp I, indica que la secuencia CCGG no está metilada; mC debe ubicarse en una secuencia diferente a la reconocida por estas enzimas.

Se concluye que la metilación del DNA puede participar en la regulación de la proliferación celular en *T. cruzi*.

Proyectos Fondecyt, DTI-U. de Chile, OEA, TWAS y WHO.

ROL DEL INTESTINO EN EL METABOLISMO DE APOLIPOPROTEINA A-I EN EL PEZ *Cyprinus carpio*. (Intestinal role in the metabolism of apo A-I in the carp fish). ROMERO, L., YUCA, M.L., GILGONCHER, G. Y KRANKOPF, M. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

La apolipoproteína A-I (apo A-I) ha sido aislada y caracterizada en nuestro laboratorio con el fin de usarla como marcador de expresión génica durante la aclimatación de la carpa. En la mayoría de las especies estudiadas la síntesis de apo A-I ocurre principalmente en intestino e hígado. En nuestro laboratorio se ha demostrado que los hepatocitos aislados de la carpa sintetizan activamente esta apolipoproteína. Sin embargo, en intestino no ha sido posible detectar síntesis de apo A-I por inmunoprecipitación, a pesar de observarse incorporación de aminoácido radiactivo a proteínas totales. Este hallazgo podría indicar que, a diferencia de otras especies, el intestino de carpa no sintetiza apo A-I o lo hace a velocidades muy bajas.

Por el contrario, la inmunocitoquímica ha detectado la presencia de apo A-I en cortes de intestino, observándose una mayor cantidad de marca en carpas adaptadas a verano comparadas con las de invierno. Además, se demostró la presencia de apo A-I por inmunodetección en proteínas biliares electro-transferidas. Estos resultados podrían explicarse si la apo A-I presente en la bilis es internalizada y transportada desde el lumen intestinal a la sangre. Para confirmar esta hipótesis, se biotiniló HDL la cual se administró oralmente a los peces aclimatados. Después de 3, 6 y 9 horas se obtuvo muestras de sangre en las que se investigó la presencia de la proteína marcada mediante un ensayo de competencia para proteínas biotiniladas desarrollado en nuestro laboratorio. Los resultados sugieren que las carpas aclimatadas a 20°C transportarían mayor cantidad de la proteína biotinilada que las aclimatadas a 10°C.

Proyectos FONDECYT 0933/88, DIC-UACH 8-86-29 y programa de graduados OEA.

METILACION DE FOSFOLIPIDOS EN CELULAS DE LEYDIG DE RATA. EFECTO DE GONADOTROFINAS. (Phospholipid methylation in rat Leydig cells. Effect of Gonadotrophins). RONCO, A.M., VALLADARES, L.E. Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA). Casilla 15138, Santiago Chile.

Se ha propuesto que la metilación de Fosfolípidos está regulada por la interacción de un ligando a los receptores de la superficie celular, constituyendo así un mecanismo por el cual la señal hormonal es transmitida a través de la membrana plasmática. En este trabajo se estudió el efecto de LH/hCG in vitro en la incorporación de  $^3\text{H}$ -metionina a Fosfolípidos de la célula de Leydig de ratas adultas y en ratas desensibilizadas con una dosis única suprafisiológica de hCG (100 U.I.). Se purificó células de Leydig en un gradiente de Percoll 10-80% y se incubaron a 37°C por 1 hr en presencia de  $^3\text{H}$ -metionina y diferentes efectores hormonales. Posteriormente la fracción lipídica fue extraída con una mezcla de Cloroformo: metanol: HCl (12:6:1) y se determinó la radioactividad presente en esa fracción. Nuestros resultados indican que hCG produce un aumento en la metilación de Fosfolípidos en células de Leydig, manifestándose este efecto tempranamente. También se observó que en células de Leydig desensibilizadas, la incorporación de  $^3\text{H}$ -metionina es mayor que en células de Leydig control. Este efecto se debería en parte a una mayor entrada del aminoácido en estas células. Estos antecedentes indican que la acción hormonal va acompañada de cambios en la metilación de fosfolípidos de la membrana plasmática de células de Leydig de ratas normales y en ratas desensibilizadas el efecto se debería fundamentalmente a alteraciones en la permeabilidad de la membrana.

Financiado por U. de Chile B-2531 y FONDECYT Proyecto 1024-89 y 973-88.

TOLERANCIA FOLIAR A LA SALINIDAD DE CLONES CHILOTES DE *Solanum tuberosum* (Leave's tolerance to salinity Chile's *Solanum tuberosum* clones) ROMERO, M., CONTRERAS, A.; MOLL, V.; BARRIENTOS, M. Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias e Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile.

Plantas tolerantes al estrés salino suelen modificar su metabolismo incrementando los niveles de ciertos metabolitos.

Se estudia la tolerancia a la salinidad en hojas de clones chilotas de *Solanum tuberosum* (U.A. 1350; 1351; 1352 y 1355) y su asociación con prolina libre, carbohidratos, lípidos totales y ácidos grasos. Además, se analizan los contenidos en cloruros.

La tolerancia a la salinidad se evalúa mediante la conductividad eléctrica y el test de tetrazolio. Las plantas se cultivaron en tierra de hoja y arena (3:1) y se regaron con soluciones de NaCl 0.1; 0.2; 0.3; 0.4 y 0.5 M. Los ácidos grasos se separaron por cromatografía gaseosa.

Los resultados evidencian que los clones más resistentes (1350 y 1355) presentan relaciones directas entre prolina libre, carbohidratos y cloruros pero no con las fracciones lipídicas.

Se concluye que, el estrés salino estimula ría la síntesis de prolina de estos clones, a expensas de altos contenidos de carbohidratos.

Financiamiento: FONDECYT 0880-88

FACTORES QUE DISMINUIRÍAN EL FLUJO GÉNICO ENTRE POBLACIONES DE *ANARTHROPHYLLON CUMINII* (PAPILIONACEAE) QUE CRECEN EN LADERAS DE EXPOSICIÓN ECUATORIAL Y POLAR EN LOS ANDES DE CHILE CENTRAL. (Factors that would reduce gene flow between populations of *Anarthrophyllon cuminii* (Papilionaceae) growing on equatorial and polar-facing slopes in Central Chilean Andes). ROZILLI, R., KALIN, H.L., y ARGENTI, J.L. Lab. Sistemática y Ecología Vegetal, Fac. Ciencias, U. de Chile. (Patricinio: H.T. Kalin).

En estudios de flujo génico en especies vegetales la distancia espacial entre los individuos es el aspecto que más se ha enfatizado. Sin embargo, otros factores tales como la similitud en los periodos de floración y vectores de polinización también afectarían la probabilidad de intercambio de polen entre los individuos. En los Andes de Chile Central, las poblaciones que crecen sobre laderas de exposición ecuatorial florecen antes y difieren en las composiciones de insectos polinizadores respecto a las poblaciones de una misma especie que crecen en laderas de exposición polar. Con el objeto de cuantificar estas diferencias fenológicas y de especies de polinizadores, se registraron los periodos de floración y las tasas de visita polinizadores en 60 individuos de *Anarthrophyllon cuminii* (Papilionaceae) en 2 laderas de exposición ecuatorial y 2 laderas de exposición polar en los Andes de Chile Central, en la estación reproductiva de 1985-1986. Además, se estimaron las distancias de dispersión de polen y semillas de esta especie. La floración comenzó ca. 30 días antes en las laderas de exposición ecuatorial, y la similitud promedio de los periodos de floración fue de 0.52 entre los individuos que crecen sobre laderas de igual exposición y de 0.15 entre los individuos de laderas exposición opuesta. En las laderas de exposición ecuatorial, *Yraea lathonioides* (Lepidoptera) realizó aproximadamente un 60% de las visitas a flores, en cambio en las laderas de exposición polar *Centris cineraria* (Hymenoptera) realizó más del 80% de las visitas. La similitud entre las frecuencias de visitas por especie de polinizador fue de 0.83 entre los individuos que crecen sobre laderas de igual exposición y sólo de 0.23 entre aquellos que crecen en laderas de exposición opuesta. Las partículas fluorescentes fueron dispersadas hasta 40 m desde el arbusto fuente, sin embargo no fueron dispersadas entre individuos de laderas de exposición opuesta separados por menos de 10 m. Los menores niveles de flujo génico por medio de polinización entre individuos que crecen sobre laderas de exposición opuesta no serían compensados por dispersión de semillas, debido a que la máxima distancia de dispersión registrada en las semillas de *A. cuminii* fue de sólo 2 m. La reducción del flujo génico podría favorecer procesos de divergencia genética entre poblaciones que crecen en laderas de exposición ecuatorial y polar, y ser uno de los factores que contribuyen a la alta diversidad y grado de endemismo en los Andes chilenos. FONDECYT 88-1177.

MODELO DE EVOLUCION MEIOTICA DE CINETOCOROS EN SALTAMONTES (A model of meiotic behaviour of kinetochores in grasshoppers). Rufas, J.S., Mazzella, M.C., Suja, J.A. y García de la Vega, C. Unidades de Biología Celular y Genética, Dpto. de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid, España. Centro de Investigaciones Biológicas, C.S.I.C., Madrid, España. Instituto de Biología Departamento de Biología Celular y Genética, Instituto de Biología, Universidad de Uruguay, Montevideo, Uruguay.

Se ha utilizado el microscopio óptico para analizar la morfología de los cinetocoros a lo largo de la meiosis. El material de estudio fueron espermatozoides de saltamontes obtenidos por aplastamiento y tratados con una técnica de impregnación argéntica.

Los cinetocoros aparecen diferencialmente teñidos en la región centromérica de los cromosomas en todas las fases meióticas. En profase I se pueden diferenciar perfectamente los cinetocoros hermanos indicando su duplicación previa a la primera metafase meiótica. Los cinetocoros cambian su morfología en relación a las fuerzas soportadas por ellos, siendo cónicos en metafase I y aplanados en metafase II. En profase y ana-telofase la morfología del cinetocoro es esférica. Esta misma morfología caracteriza a los cinetocoros de cromosomas detenidos en metafase utilizando colchicina.

VARIACIONES ESTACIONALES DE INDICES HEMATOLOGICOS EN ABROTHRIX ANDINUS (CRICETIDAE). (Seasonal variations in blood indices in Abrothrix andinus (Cricetidae)). Ruiz, G. Depto. de Biología, Fac. de Ciencias Básicas, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación.

Fluctuaciones estacionales de índices hematológicos han sido descritos en varias especies de mamíferos, pero con resultados contradictorios. En el presente trabajo se evalúa el cambio estacional de estos índices en el roedor A. andinus en una localidad sujeta a grandes variaciones climáticas estacionales (Farellones). Se trabajó con las técnicas hematológicas usuales en 20 ejemplares capturados en verano y con un igual número de individuos en invierno. Los resultados indican que las mayores diferencias estacionales se reflejan en el volumen corpuscular medio del eritrocito (menor en el invierno), en el número de glóbulos rojos y en la concentración de hemoglobina circulante, ambos mayores en invierno ( $p < 0.001$ ). Aunque el hematocrito no es marcadamente diferente en ambas estaciones, es sin embargo mayor en invierno ( $p < 0.02$ ). La concentración de hemoglobina corpuscular media no fué diferente ( $p > 0.05$ ). La disminución del volumen del eritrocito no se debe a deshidratación ya que la concentración de sólidos del plasma no difiere significativamente entre ambas estaciones ( $p > 0.05$ ). Interpretamos estas fluctuaciones estacionales como respuestas adaptativas a las mayores demandas energéticas durante el invierno.

Financiado por: FONDECYT 0813 y DTI N-2594

ESTUDIO Y CUANTIFICACION DE SITIOS DE RECEPTORES GABA-BENZODIAZEPINAS EN EL CEREBELO DE RATA NORMAL O TRATADA CON FENITOINA. Study and quantification of sites of GABA-benzodiazepines receptors in normal or phenytoin-cerebellum. G. RUIZ, VERGE, D. Esc. Medicina, U. de Valparaíso. Inst. Neurosc. Univ. P. et M. Curie, Paris, France.

La Fenitoína es una droga de amplio uso como anticonvulsivante pero con un modo de acción molecular poco claro. Ella podría actuar a nivel del cerebelo por activación de vías inhibitorias hacia corteza cerebral, siendo GABA su principal neurotransmisor en el S.N.C. El receptor postsináptico forma un complejo en el sitio de unión; GABA, benzodiazepinas (sitio regulador) y barbitúricos. El conjunto se acopla a un canal Cloro. Esta hipótesis nos lleva a estudiar los receptores GABA y benzodiazepinas en el cerebelo de rata durante el desarrollo por medio de técnicas autorradiográficas cuantitativas.

Cortes de cerebelo de rata de 30 días normal o con tratamiento crónico a la fenitoína, después del nacimiento con incubados en presencia de (<sup>3</sup>H)muscimol (sitios unión GABA) o (<sup>3</sup>H)flunitrazepam (sitios unión benzodiazepinas). Imágenes obtenidas por autorradiografías muestran importante baja de (<sup>3</sup>H)muscimol ligado a la capa granular, siendo la baja de la capa molecular de (-25%) con (<sup>3</sup>H)flunitrazepam.

Estos resultados indican una modificación en el sistema gabaérgico del cerebelo en desarrollo, con disminución de capacidad de unión del neurotransmisor a la capa granular. Se abre así la perspectiva de una nueva interpretación en el modo de acción del anticonvulsivante en el Sistema Nervioso Central, que puede ser resuelto a través de la biología molecular.

EFFECTO DE LA DESNUTRICION TEMPRANA EN LAS RESPUESTAS INTERHEMISFERICAS EVOCADAS EN LA CORTEZA VISUAL DE LA RATA. (Effect of early malnutrition on interhemispheric evoked responses in the rat visual cortex). Ruiz S., Pérez H. y Soto-Moyano R. Unidad de Neurofisiología y Biofísica, Area de Ciencias Biológicas, INTA, Universidad de Chile.

Estudios electrofisiológicos señalan que la restricción proteica precoz aumenta la latencia de las respuestas transcallosas en la corteza frontal de la rata, situación que se revierte a los 21 días de edad. El objetivo del presente trabajo es estudiar en el área visual, que tiene un desarrollo ontogenético más temprano que el de la corteza frontal, el efecto de la desnutrición calórico-proteica en la amplitud y campo de extensión de las respuestas interhemisféricas evocadas por estimulación del área visual contralateral. Se usaron dos grupos de ratas de 45 días de edad: (a) normales, provenientes de camadas de 8 crías por nodriza; (b) marásmicas, provenientes de camadas de 18 crías por nodriza. Los animales fueron anestesiados, curarizados y puestos en un aparato estereotáxico. Se insertó un electrodo bipolar de 100  $\mu$ m para estimular eléctricamente la corteza visual izquierda en las coordenadas A=0.0; L=3.5 mm. Las respuestas evocadas interhemisféricas se registraron en la corteza visual derecha, en un área comprendida entre A = -2.0, 5.0 y L= 0.5, 5.5 mm. Las respuestas interhemisféricas evocadas en la corteza visual de los animales marásmicos, respecto a los normales, mostraron: (i) menor amplitud, (ii) desigual distribución de los focos de máxima amplitud, (iii) menor extensión del campo de respuesta. Los resultados indican que la desnutrición precoz induce déficits en el desarrollo de las conexiones interhemisféricas del área visual, sugiriendo la existencia de alteraciones morfológicas que perduran en la edad adulta de la rata.

(Proyecto FONDECYT 29/1988).

**ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL PRE-DESTETE EN RATAS: SU EFECTO SOBRE DIFERENCIAS SEXUALES EN EXPLORATIVIDAD Y CONDICIONAMIENTO.** (Early enriched environmental exposure in rats: effect on sex differences in exploratory behavior and conditioning). Saavedra, M.A., Salvo, J., y Soto, M. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Comparadas con ratas machos, hembras de la cepa AIC son más activas en conducta exploratoria medida en Campo Abierto (CA), y se condicionan significativamente mejor en Condicionamiento Instrumental de Evitación de Dos Vías (RCIE2V). Con el propósito de estudiar la posibilidad de modificar estas diferencias sexuales, 6 machos y 3 hembras fueron sometidas a ambientes enriquecidos entre los días 10-15 de vida (Grupo EE) Seis machos y 5 hembras de las mismas camadas constituyeron el grupo control (SE). A los 85 días se colocaron individualmente en CA y se con tabilizaron los índices de Reactividad Emocional en Situación Novedosa durante 3'. A los tres meses fueron entrenadas en la Tarea de RCIE2V.

Resultados: se observaron diferencias en Exploratividad. Los machos EE fueron significativamente superiores a sus controles SE en Ambulacion y Latencia de Micción, y disminuyeron sus diferencias con las hembras, las que no mostraron diferencias entre sí (EE y SE). En condicionamiento, en cambio, las diferencias sexuales se mantuvieron a favor de las hembras, independientemente de la variable estimulación precoz.

Es posible que el tiempo de estimulación de 15 días sea demasiado breve como para alterar este patrón conductual genéticamente determinado y que sea necesario estimular por períodos de tiempo más prolongado para lograr cambios en la conducta de los machos.

Proyecto Fondecyt 0118/86.

**DEGRADACION DE COMPUESTOS MODELO DE LIGNINA POR CONSORCIOS BACTERIANOS.** (Degradation of lignin model compounds by bacterial consortia). Salas, L., González, J.B. y Vicuña, N. Unidad de Microbiología y Genética Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad de Chile. Casilla 114-N. Santiago, Chile.

La lignina es, junto a la celulosa y la hemicelulosa, un componente principal de la madera y otros tejidos vegetales. Debido a su complejidad estructural e insolubilidad, el estudio de la degradación de la lignina ha sido sólo posible mediante el uso de modelos moleculares (monómeros, dímeros, etc.). Esto ha permitido descubrir que la despolimerización de la lignina es llevada a cabo principalmente por los hongos de pudrición blanca. Sin embargo, se ha postulado que es la acción conjunta de hongos y bacterias lo que permite la degradación total de la lignina. A este respecto, se han descrito bacterias aisladas de la naturaleza capaces de utilizar compuestos modelo de lignina como única fuente de carbono. Entre ellas, nuestro grupo ha descrito dos cepas que crecen eficientemente en modelos diátricos.

Por otra parte, en "palo podrido", en ecosistema propio de bosques del sur de Chile, se produce una degradación selectiva de los componentes de la madera. En auestras en estados avanzados de descomposición, la lignina se halla prácticamente ausente, permaneciendo en alto porcentaje de celulosa sin ser atacada. El principal organismo responsable de esta biodelignificación selectiva es el basidiomicete *Sanoderma annularis*. Los estudios han revelado la presencia de levaduras y bacterias en estas auestras, aunque no ha podido asignarseles ninguna función específica en la delignificación. Ha contribuido a ello la dificultad experimentada en aislar dichos microorganismos en forma estable en el laboratorio.

Como una manera de conocer mejor la contribución que realizan las bacterias en procesos naturales en donde se está degradando lignina, en este trabajo se ha realizado una búsqueda sistemática de especies bacterianas presentes en auestras de "palo podrido", que sean capaces de usar compuestos modelo de lignina como única fuente de carbono y energía. Se realizaron cultivos de enriquecimiento en los que se usaron como única fuente de carbono los siguientes modelos diátricos de lignina: ácido difenilpropanoico, hidroxiacetil-desoxianisoina (dos compuestos que poseen enlaces del tipo  $\beta$ -1) y veratrílglicerol- $\beta$ -galactiléter (con un enlace del tipo  $\beta$ -0-4). Estos cultivos fueron inoculados con auestras de madera en distinto grado de descomposición. No fue posible obtener bacterias aisladas capaces de crecer en estos modelos. Sin embargo, el modelo  $\beta$ -0-4, es cuantitativamente degradado por tres consorcios bacterianos. Cada uno de ellos exhibe establemente la propiedad metabólica y representan el primer aislamiento exitoso de bacterias provenientes de "palo podrido", obtenido en el laboratorio. En esta oportunidad se describen, además, las características microbiológicas y las propiedades metabólicas de cada uno de los tres consorcios y de sus componentes individuales, a la luz de la función que les puea caber en la degradación de lignina.

Este trabajo fue financiado por el Proyecto FONDECYT 0454/88

**ESTUDIOS INMUNOLOGICOS COMPARATIVOS DE BIOADHESIVOS MARINOS.** (Comparative immunological studies of marine bioadhesives). Saez, C. y Pardo, J. (Patrocinio: L.O.Burzio). Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

El adhesivo producido por los Mytilidos es la proteína polifenólica (PP), cuya característica más singular es el alto contenido de dihidroxifenilalanina (DOPA). Hemos desarrollado un procedimiento de purificación de las PP de *Mytilus chilensis*, *Choromytilus chorus*, y *Aulacomya atax*, que evita etapas cromatográficas. La composición aminoacídica de las PP muestran diferencias, pero un alto contenido de Lys y DOPA. Llama la atención la sustitución de Pgo por Gly en alguna de ellas. Se discutirá la secuencia de consenso de la PP de *A. atax*. Se ha producido anticuerpos para la PP de *Ch. chorus* el cual reconoce las PP de otras especies. También se ha producido un antisuero contra el decapeptido sintético de consenso de la PP de *M. edulis* (Waite; USA Patent No 5485485): Ala.Lys.Pro.Ser.Tyr.Pro.Pro.Thr.Tyr.Lys. Este antisuero reacciona solo con las PP parcialmente purificadas. El material inmunoreactivo son polipeptidos de 18 y 21 kDa. Se determinará la composición aminoacídica y secuencia de ellos. Inmunoquímica reveló que tanto el suero anti-PP como el antipeptido reconocen el mismo tipo celular en la región glandular del pie del molusco. Se discutirá la hipótesis de que los polipeptidos de 20 kDa serían precursores de la PP. (Financiado por Proyecto NO C-10083 de Fundación Andes y Convenio PROCASUR-UACH).

**CAMBIOS EN LA EXPRESION GENICA COMO RESPUESTA A INFECCION POR FITOPATOGENOS** (Changes in gene expression as a response to phytopathogen infection) Salazar, J. Depto Bioquímica y Biol. Mol., Fac. Cs. Ucas. y Farmacéuticas y Depto Bioquímica, Fac. Medicina. U. de Chile.

En numerosas especies vegetales los niveles de fenilalanina amonio liasa (PAL) aumentan significativa y transitoriamente en respuesta a la acción de patógenos. Este aumento está relacionado con la producción de fitoalexinas, metabolitos secundarios ausentes en tejidos sanos. Estos se acumulan en el sitio de la infección e inhiben el desarrollo de hongos y de bacterias.

En este trabajo se estudia las variaciones del material genético responsable de la síntesis de fitoalexinas, en respuesta a fitopatógenos.

Se utilizaron plántulas de limonero que se infectaron con *Trichoderma harzianum* y se aislaron los RNA polisomales a diferentes tiempos post-infección (0, 14, 18, 22 y 26 horas). Por cromatografía en Oligo dT-celulosa se purificaron los mRNA de cada grupo de plántulas y se establecieron las condiciones óptimas para la síntesis "in vitro" de proteínas.

Se determinó la incorporación de  $^3$ H-Leu en los productos de traducción y se separaron posteriormente en PAGE-SDS. Los péptidos sintetizados a partir de los mRNA de los diferentes grupos de plántulas, se analizaron comparativamente.

Financiado por FONDECYT 157/88; IFS (C/1139-1) y DTI-U.Chile (B 2950-8813). Dirigido por L.M. Pérez.

ESTRUCTURA GENICA DE UN OPERON RIBOSOMAL Y EXPRESION DE ALGUNOS PROMOTORES GENOMICOS DE *Thiobacillus ferrooxidans*. (Genetic structure of a ribosomal operon from *T. ferrooxidans* and genomic promoters expression). Sánchez, M., Flores, M., Metz, C. y Venegas, A. Unidad de Microbiología y Genética Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile.

*Thiobacillus ferrooxidans* es una bacteria quimiolitotrófica acidófila que está involucrada en el proceso de biolixiviación de minerales. El desarrollo de un sistema de manipulación genética es importante si se desea mejorar el proceso, modificando algunas de las propiedades metabólicas o estructurales de los microorganismos involucrados.

Previo al desarrollo de la manipulación genética es necesario incrementar el conocimiento básico de la estructura genica de estos microorganismos. Es por ello que nos hemos dedicado a la caracterización de genes y análisis de promotores, con el fin de descifrar estas estructuras y disponer de ellas en forma aislada para la construcción de un vector basado en un plásmido de amplio rango de hospedero. Para esto se construyó una genoteca con DNA cromosomal de *T. ferrooxidans* AA.

La estrategia fue aislar un gen de tRNA como modelo simple de estructura genica de esta especie, usando como sonda una fracción de RNA de bajo peso molecular, purificada desde el mismo microorganismo. Se secuenció el DNA utilizando el método de Sanger. Para aislar promotores se realizó una genoteca en el vector pK232-B, específicamente diseñado para este fin.

Uno de los clones aislados con la sonda de RNA, llamado pTF92, resultó ser un operón ribosomal conteniendo dos genes para tRNA. La organización genica de este operón, resultó ser semejante a la de *E. coli*, con la siguiente distribución de genes: 16S, tRNA<sup>Met</sup>, tRNA<sup>Met</sup>, 23S y 5S. Mediante secuenciación del operón, además de los genes mencionados, se identificó la señal de término de transcripción, señales de procesamiento y una secuencia complementaria a la secuencia de "Shine-Dalgarno", localizada al término del gen de 16S. El clone caracterizado no contiene el promotor de transcripción, pero permitió correlacionar semejanza funcional y estructural de estos genes, al compararlos con *E. coli* y *B. subtilis*.

Finalmente, se aislaron varios promotores de transcripción de *T. ferrooxidans*, utilizando un criterio basado en la expresión funcional de estas estructuras en *E. coli*. A estos promotores se les determinó su secuencia de bases, encontrándose una conservación de la secuencia de bases descrita como de consenso para promotores procarionticos.

El paso siguiente consistirá en subclonar estos promotores en el vector de amplio rango de hospedero pK240 y de este modo obtener expresión del gen para resistencia a estreptomicina. La expresión de dicho gen, existente en el vector pK240, estará bajo el control de estos promotores aislados de *Thiobacillus*, constituyendo el paso inicial para desarrollar un sistema de transferencia de material genético en estos microorganismos acidófilos.

Este proyecto ha sido financiado por PNUD/OMUDI CH185/002 y PNUD/OMUDI/CSEBELCO CH188/003.

INTERACCION DEL CORE VIRAL CON LA PROTEINA VP6 EN LA TRANSCRIPCION DE ROTAVIRUS. (Interaction of viral core and VP6 protein in rotavirus transcription). Sandino, A.M. Unidad de Virología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Chile.

El rotavirus de cubierta simple es capaz de transcribir "in vitro" los 11 genes virales. La partícula viral de cubierta simple está formada por el core viral, donde se encontraría la maquinaria de transcripción y la proteína VP6, que compone la cubierta interna del virus, la cual se ubica alrededor del core. Nosotros hemos observado que la presencia de la proteína VP6 es indispensable para que ocurre la transcripción. En cambio, esta proteína aparentemente no es requerida para la replicación viral. Bajo nuestras condiciones de estudio la proteína VP6 no tiene actividades enzimáticas asociadas a la transcripción. Resultados sugieren que VP6 era una proteína que se unía al RNA genómico viral, sin embargo mediante experimentos de "blotting", de retardo en la movilidad electroforética y de inmunoprecipitación del complejo proteína-RNA se ha descartado esta posibilidad. Actualmente se está estudiando cual es la proteína del core que interacciona con VP6, utilizando técnicas de entrecruzamiento de proteínas, con el fin de entender su función en la transcripción. Aparentemente su interacción es con la proteína VP2 del core. Mediante el uso de anticuerpos anti VP2, que se unan alrededor de core se intenta reemplazar a la proteína VP6 en su función en la transcripción.

También se dispone de una mutante termosensible en la proteína VP6 que es capaz de replicar el genómico, sin embargo se está estudiando si esta mutante a la temperatura no permisiva es capaz de transcribir.

Financiado por Proyecto FONDECYT # 1017.

\* A.M. Sandino es becaria de la Fundación Andes.

MEMBRANAS AISLADAS DE MUSCULO ESQUELETICO DE ANFIBIO POSEEN ACTIVIDAD INOSITOL 1,4,5-TRISFOSFATASA. (Membranes isolated from amphibian skeletal muscle have inositol 1,4,5-trisphosphatase activity). Sánchez, X. e Hidalgo, C. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Centro de Estudios Científicos de Santiago.

Se ha postulado que el inositol 1,4,5-trisfosfato (IP<sub>3</sub>) actúa como mensajero químico en el acoplamiento excitación-contracción en músculo esquelético. De acuerdo a este modelo, la contracción sería consecuencia de la liberación de IP<sub>3</sub> en respuesta a la estimulación eléctrica, y la relajación se produciría por acción de una IP<sub>3</sub> fosfatasa. Nosotros hemos investigado la presencia de actividad IP<sub>3</sub> fosfatasa en membranas aisladas de túbulos transversales (TT) y retículo sarcoplasmático (RS), incubando las membranas con <sup>3</sup>H-IP<sub>3</sub> (40 μM) en presencia de 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1 M KCl, 0.2 mM EGTA, 50 mM HEPES-Tris, pH 7.2. La reacción se detiene con TCA y se determinan los inositoles fosforados producidos por análisis del sobrenadante mediante HPLC. Ambas membranas poseen actividad hidrolítica, pero los TT tienen una actividad específica 4 a 5 veces mayor que la del RS. Resultados similares han sido descritos por Milani y cols. (Biochem. J. 254, 525, 1988) en membranas de mamífero. Sin embargo, estos autores describieron que el IP<sub>3</sub> se hidroliza sólo a IP<sub>2</sub>, en tanto que nuestros resultados muestran claramente que el IP<sub>3</sub> se hidroliza secuencialmente a IP<sub>2</sub>, IP e inositol. Hemos demostrado previamente que las membranas aisladas de TT incorporan inositol *de novo* a fosfatidilinositol, y que este se fosforila hasta fosfatidilinositol (4,5)-bifosfato, el que se hidroliza a su vez produciendo IP<sub>3</sub>. Por lo tanto, los resultados presentes permiten concluir que todo el ciclo de reacciones enzimáticas que dan cuenta de la síntesis y degradación del IP<sub>3</sub> están presentes en las membranas de los TT.

Financiado por FONDECYT 972, NIH GM 35981 y MDA.

FITOSOCIOLOGIA DE LOS BOSQUES PANTANOSOS COSTEROS NATIVOS DE LA VI Y VII REGION DE CHILE CENTRAL. (Plant sociological studies in the coastal native swamp forest from VI and VII region Central Chile). San Martín, J.; Troncoso, A. y Vallederes, L. Sede Talca Pontif. Universidad Católica de Chile y Universidad de Talca, Talca.

En la Cordillera de la Costa de Chile Central son frecuentes bosques de canelo y mirtáceas. Estos bosques tienen amplia y fragmentada distribución y son azonales. En quebradas costeras de la VI y VII regiones se estudió la estructura florística de estos bosques y se determinó los sintaxa. Entre Tregualemu y río Rapel se levantaron 153 censos vegetacionales, registrándose las especies, su cobertura por estrato y su valor de importancia. En una tabla ordenada se determinó el espectro biológico y las asociaciones. Se inventariaron 196 especies, siendo las más importantes: Luma chequen, Myrceugenia exauccae, Blechnum chilense, Persea lingue y Boquila trifoliolata. En las formas de vida dominan fanerófitos y hemicriptófitos. Se determinaron siete asociaciones: Myrceugenetum exauccae, M. exauccae con Luma gavena, M. exauccae var. con Amomyrtus luma, Luma-Myrceugenetum exauccae, Persea-Myrceugenetum exauccae, Pitavio-Myrceugenetum exauccae y Scirpo-Notofagetum antarcticae. El mayor número y diversidad de especies así como de sintaxa, se encuentran al sur del río Maule.

Proyecto de Enlace 3025 CONICYT-1988

INTERACCION COLAGENO-PROTEOGLICANOS DURANTE LA REGENERACION DE LA ALETA CAUDAL DE TELEOSTEOS. (Collagen-proteoglycans interaction during tail fin regeneration of teleosts). Santamaría, J.A. y Becerra, J. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga. España.

Las aletas de peces teleosteos sufren un proceso de regeneración, tras la amputación parcial, que en pocas horas restablece la estructura completa.

En esta comunicación, se presenta la evolución de la matriz extracelular durante el proceso, a la luz de datos histoquímicos procedentes de ejemplares de Carassius auratus y Tilapia melanopleura, centrando la atención en membranas basales, matrix blastémica y matrix lepidotriquial.

El uso de tinciones específicas, picrosirio para colágeno, azul alciano para glucosaminoglicanos, PAS, metenamina de plata y lectinas para glucoproteínas, así como de digestiones enzimáticas con papaína, hialuronidasa y colagenasa, nos ha permitido hacer una buena aproximación al papel que estas moléculas del entorno extracelular desempeñan en el proceso regenerativo. La cuantificación microdensitométrica realizada en secciones tisulares, nos ha permitido descubrir que la interacción colágeno-proteoglicanos es alta en las estructuras esqueléticas principales (las lepidotriquis) y que esta interacción es progresivamente mayor según madura el tejido.

De todo ello, se deduce que la aleta regenerante de teleosteos es un excelente modelo para el estudio de marcadores celulares y extracelulares durante los procesos morfogenéticos.

ESTUDIOS DE COMPLEMENTACION EN EL SINDROME DE ZELLWEGER (SZ), UNA AFECCION GENETICA QUE AFECTA LA BIOGENESIS DE LOS PEROXISOMAS. (Complementation studies in Zellweger syndrome, a genetic disorder affecting peroxisome biogenesis). Santos, M.J. Departamento Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile.

El síndrome de Zellweger es una afección genética recesiva y letal, caracterizada por múltiples malformaciones y complejas alteraciones bioquímicas. Estas incluyen deficiencias de funciones peroxisomales tales como la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos, la síntesis de plasmalógenos. No existen peroxisomas en este síndrome y las enzimas peroxisomales se sintetizan en forma normal, pero permanecen en el citoplasma o son degradadas. Recientemente, hemos encontrado que en este síndrome existen proteínas de la membrana peroxisomal ensambladas en membranas vacías ("fantasmas peroxisomales"), lo que nos llevó a postular que este síndrome sería debido a una mutación que afecta la destinación de los componentes peroxisomales (Santos et al., Science 239:1536, 1988 y J. Biol. Chem. 263:10502, 1988).

Con el propósito de investigar si existen más de una mutación responsable del fenotipo SZ, realizamos estudios de complementación genética entre diferentes líneas celulares de fibroblastos derivados de distintos pacientes. Fusionamos estas células y evaluamos la recuperación del fenotipo peroxisomal normal por inmunofluorescencia. Pudimos detectar 5 grupos de complementación diferentes en el SZ. Este estudio permite evidenciar heterogeneidad genética en el SZ, reconociéndose al menos 5 genes responsables del ensamblaje peroxisomal.

INTERACCION DEL ANTIGENO T CON ESTRUCTURAS SUBNUCLEARES EN CELULAS TRANSFORMADAS POR SV40. (T antigen interactions with subnuclear structures in SV40-transformed cells).

Santos, M., Corvalán, A., Arenas, P.A. y Ordóñez, G.E. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La distribución intranuclear del antígeno T mayor (ag-T), cambia en forma cíclica dependiente de células transformadas por SV40. Cada patrón de distribución podría resultar de interacciones del ag-T con distintas estructuras subnucleares. La existencia de tales interacciones fue investigada en células de cultivos con alta (A) o baja (B) actividad proliferativa. Estas se sometieron in situ a extracción diferencial para remover, secuencialmente, la fracción nucleoplásmica y cromatínica, dejando como remanente la matriz nuclear. El ag-T se detectó citoquímicamente (PAP) después de cada extracción, con anticuerpos poli y monoclonales. Los resultados sugieren que, el patrón homogéneo observado en los cultivos B, estaría dado por la forma soluble de ag-T en el nucleoplasma. El patrón heterogéneo observado en los cultivos A, en cambio, resultaría de la asociación del ag-T a zonas de la matriz. Tratamientos con cicloheximida y experimentos de pulso y caza permitieron analizar la estabilidad de las distintas subpoblaciones de ag-T. Al respecto, se observó que el ag-T asociado a matriz es más estable que el nucleoplásmico y que la vida media del ag-T nucleoplásmico y cromatínico, analizados en conjunto, es mayor en las células en reposo que en proliferación. Los cambios en la localización y en el metabolismo del ag-T, en función de la actividad proliferativa, sugieren que ésta participaría en el control de la proliferación de las células transformadas por SV40.

Proyectos: 447/87 Fondecyt; B2366 UCh; 59CHL24 THAS.

MICROSUCESION HETEROTROFICA EN CADAVERES DE CONEJOS. (Heterotrophic microsuccession in rabbit carcasses). Sáiz, F., Tosti-Croce, E. y Leiva, M.S. Sección Ecología, U. Católica de Valparaíso, Casilla 4059, Valparaíso, Chile.

Se presentan los resultados del primer ensayo sobre sucesión heterotrófica en cadáveres de conejos en bioma de espinal degradado y clima mediterráneo.

En un sistema de grilla, se dispusieron 25 cadáveres de conejos ( $\bar{X}$  edad: 55 días;  $\bar{X}$  peso: 1150 gr) sobre la tierra que llenaba cajas especiales enterradas a nivel de suelo, manteniendo los estratos naturales y protegidos de macrodepredadores. La secuencia de extracción de cadáveres se hizo al azar y su frecuencia de acuerdo a la velocidad de la descomposición (3-4 a 8-10 días). Se registraron condiciones climáticas durante el proceso.

Además del muestreo en cadáveres se colectó mesofauna del suelo cada 2 cm. A 0-2, 12-14, 23-25 cm se evaluó pH, materia orgánica y N.

Duración del ensayo: 10-08/26-12-88, incluyendo invierno, primavera y parte de verano.

Resultados: a) ligera acidificación, disminución de m. orgánica y mantención de contenido de N en suelo; b) Tanatológicamente se distinguen las fases: FRESCO= 10-11 días, cuerpo intacto, larvas de dípteros en el interior; ENFISEMATOSO= 4-5 días, cuerpo hinchado; LICUEFACTO= 7-8 días, aparición de orificios en el cuerpo y liberación de líquidos al suelo; SECO=cáscara deshidratada, fibras, piel, pelos, pupas de dípteros, larvas de Staphylinidae, a partir del día 23; c) pupas de dípteros parasitadas por Hymenoptera y Staphylinidae; d) No participación de Dermestidae y poca de Trogidae.

Proyecto Fondecyt 646/88

PURIFICACION Y CARACTERIZACION DE CILIOS QUIMIOSENSORES DE EPITELIO OLFATORIO DE RANA CHILENA CAUDIVERBERA CAUDIVERBERA. (Purification and characterization of chemosensory cilia from the olfactory epithelium of the Chilean frog *Caudiverbera caudiverbera*). Schmidt, P. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (Patrocinio: O. Monasterio)

Los mecanismos de transducción de la señal olfatoria han sido estudiados con preparaciones de cilios quimiosensores aislados de epitelio olfatorio de *Rana catesbeiana*, *Rana ridibunda* y del pez-gato (*Ictalurus punctatus*). En ellos se ha caracterizado una actividad adenilato ciclasa presente en la membrana ciliar y la respuesta electrofisiológica. La topología de las proteínas de membrana y sus posibles interacciones no han sido estudiadas. Hemos obtenido una preparación parcialmente purificada de cilios quimiosensores de epitelio olfatorio de rana chilena *Caudiverbera caudiverbera*. Microscopía electrónica de transmisión y de barrido revelan la presencia de cilios olfatorios y de vesículas de membrana circularizadas. Los cilios olfatorios presentan longitudes entre los 8-20  $\mu\text{m}$  y diámetro de 0,26  $\mu\text{m}$ , similares a las observadas en las otras especies anfibias. La pureza de la preparación fue evaluada de acuerdo a la actividad Na-K ATPasa (1,32 U/mg) y adenilato ciclasa que resultó ser dependiente de GTP ( $5,352 \pm 0,312$  nmoles cAMP / min x mg proteína), 8 veces mayor a la presente en membranas desclisadas. Electroforesis en geles de poli-acrilamida-SDS muestran dos bandas intensas de Mr 55.000 y 53.000 ( $\alpha$  y  $\beta$ , tubulina) y otras de menor intensidad de Mr 95.000, 78.000, 58.000, 46.000, 42.000 y 36.000. Las dos últimas, corresponderían a la subunidad G  $\alpha$  y G  $\beta$ , respectivamente.

Los cilios olfatorios de rana chilena de acuerdo a la caracterización descrita son similares a los obtenidos de otras fuentes y nos permitirán estudiar la topografía de las proteínas de la membrana ciliar involucradas en el fenómeno olfatorio.

Financiado por Proyectos FONDECYT y DTI.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE DNA DE ORGANELOS DE *Citrus limonum*. (Isolation and characterization of DNA from organelles of *Citrus limonum*). Seelenfreund, D. Depto. de Bioquímica y Biol. Mol., Fac. Cs. Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

El material genético en plantas se encuentra distribuido en núcleos, mitocondrias y cloroplastos. La localización de genes involucrados en los mecanismos de defensa de tejidos vegetales frente a fitopatógenos requiere de un conocimiento previo del genoma del organismo en estudio. En el caso de *Citrus* la información disponible es muy escasa.

Para iniciar este trabajo se realizó un análisis de la ultraestructura de los tejidos con el fin de diseñar una estrategia de purificación de los organelos que contienen material genético. Estos se aislaron de hojas y plántulas de limonero mediante centrifugación diferencial y partición de fases. La integridad de los organelos fue verificada mediante microscopía electrónica de transmisión. Se extrajo DNA de preparaciones de núcleos, mitocondrias y cloroplastos, cuya pureza era superior al 90%. Los DNA purificados fueron digeridos con enzimas de restricción generando fragmentos de menor tamaño. Los fragmentos obtenidos serán hibridados contra sondas correspondientes a enzimas responsables de la síntesis de metabolitos de defensa de la planta frente a patógenos.

Financiado por FONDECYT 157/88, IFS (C/1139-1) y DTI-U. Chile (B2930-8813). Dirigido por L.M. Pérez.

CONCENTRACION DE  $^{137}\text{Cs}$  EN LECHE BOVINA DE LA X REGION, CHILE. (Cesium-137 abundance in cow milk from the X Region, Chile). Schuller, P., Handl, J. y Videla, J. \*Instituto de Física, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

\*\*Niederösterreichisches Institut für Radioökologie, Hannover RFA. (Patrocinio: M. Alberdl).

Cesio-137 es uno de los radioisótopos artificiales de mayor importancia radiosanitaria. La leche es considerada entre los alimentos que contribuyen mayoritariamente a la ingestión de radionucleidos provenientes de depósito atmosférico, especialmente en lactantes y niños.

En 25 predios de producción lechera, ubicados en la X Región, Chile, entre las latitudes 39°31'S y 40°07'S se recolectaron muestras de 3l de leche entre los períodos de pastoreo 1984-85 y 1985-86. La actividad de  $^{137}\text{Cs}$  en leche se midió por espectroscopía gamma de alta resolución en las muestras previamente evaporadas y calcinadas a 400°C.

La mediana de la concentración de  $^{137}\text{Cs}$  en leche procedente de predios ubicados en la cercana de Valdivia (39°50'S, 73°15'O), de 0.39Bq/l (n=21), excede a la de leche recolectada en los otros lugares de la X Región de 0.27Bq/l (n=12). Ambos valores son además superiores a los reportados en el informe UNSCEAR 1982 para Chile, Perú y Argentina, que oscilan entre 0.06 y 0.2 Bq/l en los años 1979 y 1980 y están en límite superior de los señalados para países del Hemisferio Norte, donde varía entre 0.1 y 0.3Bq/l en los mismos años.

Se discuten en el presente trabajo las posibles causas de los valores encontrados.

Financiado por Proyectos FONDECYT 0936/88 y DIUMCH S-86-24, Chile, y Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit y Niedersächsisches Institut für Radioökologie, RFA.

RECEPCION Y TRANSMISION DE SEÑALES DE CONTACTO DURANTE EL DESARROLLO INICIAL DE LOS MAMIFEROS. (Reception and transmission of contact signal during the early mammalian development).

Septilveda, M.S.(\*) & Izquierdo, L. Dpto. Biología, Fac. Ciencias, U. de Chile.

Hemos mostrado que el contacto celular provoca la regionalización de la membrana plasmática, reconocida por la actividad de dos enzimas (5'-nucleotidasa y fosfatasa alcalina) y que este proceso implica la existencia de una señal de contacto, de un receptor y de una vía de transmisión a través de la célula.

Para identificar los componentes de superficie comprometidos en la recepción de la señal de contacto, hemos utilizado lectinas que se unen a distintos carbohidratos. Aquellas se unen a glucosa, manosa, N-acetilglucosamina, ácido siálico, galactosa y galactosamina provocan regionalización de la membrana plasmática en una forma dependiente de la concentración utilizada y del tiempo de incubación. Lectinas que se unen a fucosa, en cambio, no provocan regionalización.

Para estudiar la participación de segundos mensajeros en la transmisión de la señal de contacto hemos utilizado dibutiril-cAMP, ésteres de forbol, oleoilacetilglicerol, ionóforo de Calcio, LiCl, etc. Los resultados hasta el momento sugieren la participación de mensajeros del sistema fosfatidilinositol y no de cAMP en la transmisión de la señal de contacto que lleva a la inducción de la regionalización.

Financiado por: Fondecyt y U. de Chile.

(\*): becario Fundación Andes.

LA EXPRESION DEL GEN KININOGENO T ES AUMENTADA DURANTE LA VEJEZ. (T-kininogen gene expression is induced during aging). Sierra, F., Fey, G., y Guigoz, Y.\*; Nestlé Research Centre, Nestec Ltd. Vers-chez-les-Blanc, CH-1000 Lausanne 26, Suiza, \*Dept. of Immunology, Research Institute of Scripps Clinic, La Jolla, CA 92037, EEUU.

Hemos construido una biblioteca de cADN de hígado de ratas senescentes (24 meses de edad), y por medio de hibridación diferencial, hemos seleccionado clones correspondientes a ARN mensajeros cuya abundancia es aumentada durante la vejez. La secuencia de las inserciones ha demostrado que la mayoría de los clones (9 de un total de 10) contienen secuencias que codifican el kininógeno T (también llamado Major Acute Phase protein, MAP). Experimentos de elongación de ARN en núcleos aislados han demostrado que el incremento del ARN es debido a un control a nivel de la transcripción. Los genes de kininógeno T tienen tres sitios de inicio de la transcripción; mapeo con nucleasa S1 o con ribonucleasas (RNase mapping) permiten concluir que, en ratas viejas, el sitio de iniciación # 2 es el preferencialmente utilizado. Durante una reacción de fase aguda (inflamación), la transcripción de los genes de kininógeno T también se encuentra muy elevada, pero en este caso, son los sitios # 2 y # 3 los inducidos. Nuestras investigaciones actuales tienen por objetivo determinar el mecanismo de inducción, a través de métodos como la transfección y la transcripción in vitro en extractos solubles de proteínas nucleares.

EFFECTO DE SUSTRATOS ORIGINADOS DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS SERVIDAS SOBRE LA DENSIDAD POBLACIONAL DE *Eisenia foetida* (Effect of substratums originatid by wastewater treatment plants on the population density *Eisenia foetida*).

Silva T., G., Acuña H., O., Villagra A., M., López S., R. y Garrido O., C. Departamento de Ciencias Biológicas e Instituto del Desierto, Universidad de Antofagasta.

De las numerosas actividades que realiza el hombre se originan desechos orgánicos que pueden recuperarse a través de la lombricultura. Se sabe que las aguas servidas, domiciliarias e industriales, constituyen una fuente contaminante con desechos orgánicos las que al ser tratadas dejan un sedimento conocido como lodo y permite recuperar agua, un recurso limitado en las zonas desérticas.

Se propone determinar si, sustratos provenientes de la Planta de Aguas Servidas, pueden servir para el cultivo de *Eisenia foetida*.

Se realizó el montaje en triplicado de lechos experimentales que fueron aceptados por *Eisenia foetida* con los siguientes sustratos: lodo seco y decantado, regados con aguas servidas, tratadas, cloradas o potable. Se determinó el pH, la presencia de algunos iones (cationes y aniones), porcentaje de materia orgánica, además de censar la población y determinar su biomasa.

Los resultados indican que los lechos experimentales tienen un porcentaje de 51 a 65% de materia orgánica con un pH que oscila entre 6.8 y 7.0. En todos los sustratos hubo un incremento significativo de la biomasa y del número de organismos, obteniéndose los mejores resultados, en el sustrato formado por lodo seco o compost, regado con aguas servidas. Se determinó la presencia de iones  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{SO}_4^{--}$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{NO}_3^-$ .

Se infiere que los sustratos formados con lodo seco o compost con características químicas determinadas, son adecuados para la reproducción y aumento de biomasa de la *Eisenia foetida*; lo que permitiría la obtención de materias orgánicas que conduzcan a la producción de alimentos, la obtención del humus y como una forma de evitar la contaminación del medio continental u oceánico - costero.

Financiamiento : PROYECTO PNUD - CHI - 87/024

VARIACIONES INTRAESPECIFICAS EN PATRONES DE MOVIMIENTO EN *D. melanogaster*. (Intraspecific variations in patterns of movement in *D. melanogaster* adult flies). Silva, J. y Godoy-Herrera, R. Depto. Agron. y Cs. Amb. U. Bio-Bio y Depto. Biol. Cel. y Genét. Fac. Medicina, U. de Chile.

Como se mueva una mosca puede tener consecuencias para la búsqueda de alimento, de pareja y/o de congéneres. Estudiar patrones de movimiento puede ayudar a identificar los mecanismos conductuales de agregaciones y de otros comportamientos sociales. Aquí se describe como se mueven adultos de *D. melanogaster*, en ambientes utilizados por congéneres de sexo opuesto y en ambientes "vfrgenes".

Se examinaron individualmente moscas vfrgenes y no vfrgenes de 3-4 días, introduciéndolas a cápsulas petri cuya tapa se dividió en cuadrados de 0.5 cm. Después de 30 seg. se registró la posición de cada mosca cada 5 min hasta los 30 min. Se estimó la locomoción por la distancia entre posiciones consecutivas y los giros, para el ángulo descrito por tres posiciones consecutivas.

Hay correlación entre traslación y rotación (giros). En ambientes utilizados por moscas de sexo opuesto, aumentan esos comportamientos expresándose con más vigor en los machos, aunque esto depende del genotipo. Las preferencias por la tapa, los lados o el fondo de la caja son relativas al genotipo. También, la forma de moverse de moscas vfrgenes difiere de la de moscas con experiencia sexual.

Los resultados sugieren que la forma de moverse de los adultos de *D. melanogaster* se modifica por señales dejadas por congéneres. La magnitud de esta modificación depende del genotipo y del estado fisiológico de las moscas. (FONDECYT 0044; DTI B2309-8945, U. de Chile).

CARACTERIZACION DE LOS COMPONENTES DE LA MATRIZ EXTRACELULAR DEL DISCO INTERVERTEBRAL CANINO. Silva, N., Fariñas, G., Garcés, H. Depto. Patología Animal, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile.

La columna vertebral, eje anatómico central de los vertebrados, está constantemente sometida a variados cambios de fuerza ténsil derivado de su función de sostén y por lo tanto expuesta a patologías en el hombre como en el canino.

Se presentan estudios histoquímicos y bioquímicos del disco intervertebral canino, a fin de correlacionar la composición de la matriz extracelular en relación con el desarrollo post natal. Los principales componentes: colágeno y proteoglicano presentan una interdependencia y correlación muy estrecha.

Se detectó un predominio de colágeno tipo I (90%) en la zona externa del anillo, una mezcla de los tipos I y II (40 y 60%) en la zona interna y mayoritariamente tipo II (90%) en el núcleo pulposo, a través del análisis electroforético y de la espectrofotometría U.V. y visible de los extractos de las diferentes zonas.

El estudio histoquímico, por medio de la reacción MBTH (específica para colágeno) permite detectar la presencia de los tipos I y II y el estado de maduración de la fibra de colágeno al presentar colores típicos comparados con estándares. Los GAGs estudiados en las mismas zonas, utilizando colorantes catiónicos (Safranina O, Azul de Toluidina y Azul de Alciano) permiten observar bandas que aparecen entre las fibras de colágeno del anillo con una periodicidad estable que tiene relación con los sitios de unión de la fibra. En el núcleo pulposo se observa un retículo inserto en una sustancia amorfa constituida por los GAGs.

El análisis de las diferentes zonas permitirá establecer la base para estudios de patologías discales y vertebrales que afectan a los animales domésticos y al hombre.

Proyecto DTI 2939-8812

**DETECCION CITOQUIMICA DE ACTIVIDAD ATPasa EN PEROXISOMAS DE HIGADO DE RATA.** (Cytochemical detection of ATPase activity in rat liver peroxisomes). Skorin, C.; Munizaga, A., y cols. Laboratorio de Citología Bioquímica y de Histología. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio : C. Koenig).

En estudios previos (BBRC 156: 1353-1359, 1988), describimos una actividad ATPásica en peroxisomas aislados por fraccionamiento subcelular. Esta ATPasa es Mg dependiente, sensible a NEM y DCCD y su pH óptimo es 7,5. Considerando que la fracción peroxisomal purificada presenta  $\pm$  5 % de contaminación proteica, por mitocondrias y retículo endoplásmico, es necesario demostrar que la ATPasa detectada no es un componente de los organelos contaminantes. Con este objeto se desarrolló un procedimiento citoquímico que permitiera observar ultraestructuralmente la actividad ATPásica asociada a los peroxisomas. Se establecieron las condiciones de fijación y composición adecuada del medio de incubación. El análisis bioquímico demostró que en peroxisomas purificados, fijados y en presencia de Pb, se preserva  $\pm$  10% de la Mg-ATPasa sensible a NEM. Esta actividad es máxima con ATP como sustrato. El estudio histoquímico mostró, al microscopio electrónico, reacción positiva asociada a la membrana de los peroxisomas de hígado de ratas control y tratadas con drogas proliferadoras de peroxisomas. Se observaron cortes de hígado, fracción "L", y peroxisomas 95 % puros. Se demostró especificidad de sustrato y sensibilidad de la reacción a NEM y otras drogas.

Estos resultados sugieren que la actividad ATPásica detectada bioquímicamente, corresponde a una ATPasa localizada en la membrana peroxisomal, cuya función requiere posterior evaluación.

(Financiado por Proyecto Fondecyt N° 0250/88 y Proyecto PNUD CHI/88/017).

**INTERACCION ATIPICA ENTRE EL VIRUS IPN Y LAS CELULAS CHSE-214.** (Atypical interaction between IPN virus and CHSE-214 cells). Soler, M., Farías, G., Kiss, J. Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

Desde hace un tiempo nuestro grupo de trabajo ha estado utilizando el virus de la necrosis pancreática infecciosa, virus IPN, como modelo. La idea es contribuir a esclarecer el mecanismo de infección de los virus que no tienen una envoltura lipídica externa.

En esta comunicación se presentan resultados de experimentos diseñados para conocer la proporción de virus adsorbido respecto a la de virus internalizado. Básicamente el ensayo consiste en incubar virus radiactivo con células en monocapas. A diferentes tiempos se analiza la proporción de cuentas que pueden ser removidas por tripsina, virus adsorbido, respecto a las cuentas que permanecen asociadas a la célula.

Al emplear 125 I-virus, surgió un resultado sorprendente, la proporción de virus internalizado en 2h fue sólo un 4% del material con que se infectó. Si se usa virus marcado en su ácido nucleico los resultados son muy similares. Estos resultados son atípicos, la mayoría de los virus son internalizados masivamente.

El significado biológico de nuestros resultados se discuten en base a la existencia de subpoblaciones de partículas virales y/o restricciones que impiden a la célula a una infección masiva.

Proyecto N° 0810 de FONDECYT.

**ACCION DE ACETILCOLINA EN EPITELIO DE ALTA RESISTENCIA.** (Action of acetylcholine on high resistance epithelium). Sobrevia, L., Quevedo, L., Alarcón, J. y Concha, J. Departamento de Ciencias Fisiológicas. Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción.

Previamente se ha informado respecto a la acción de drogas simpaticomiméticas en piel abdominal de sapo *Pleurodema thaul*, no así la acción de acetilcolina en esta preparación.

El presente trabajo propone los probables eventos que acontecen para la regulación del transporte iónico en este modelo biológico al administrar esta droga. Acetilcolina genera una respuesta bifásica de la piel cuando es administrada en el medio que baña su lado serosal, un aumento (A) de la corriente de cortocircuito (CCC) y diferencia de potencial transepitelial (DP) seguido esto de una disminución (B) de los parámetros. Atropina, indometacina o el reemplazo del medio de baño serosal normal por Ringer sin  $Ca^{+2}$  mas EGTA inhibieron la fase A, en cambio d-tubo curarina, reserpina, propranolol, dibenamina o el reemplazo de la solución de baño normal por Ringer isetianato no modificó esta respuesta. Muscarina, GMPc, AMPc y PGE<sub>2</sub> aumentan la CCC y DP; clorpromazina inhibe la respuesta B a acetilcolina. El test de amilorida de Isaacson arroja un aumento y disminución de la resistencia al paso apical de  $Na^{+}$  para las fases A y B respectivamente tal como ocurre con las determinaciones de flujo mucosa-serosa de  $Na^{+2}$ . En pieles incubadas con Ringer colina o cuando amilorida (100µM) fue administrada previamente al medio mucosal, acetilcolina no tuvo efecto. En general, un aumento de la conductancia apical de  $Na^{+}$  sería el resultado de la estimulación de la síntesis de PGE<sub>2</sub>, aumento de la adenilatociclasa y guanilatociclasa, y la disminución producto de una liberación de  $Ca^{+2}$  desde sitios de reserva intracelulares.

D.I. Proyecto 20.33.41 Universidad de Concepción.

**CARACTERISTICAS DEL ACOPLAMIENTO DE N-ACETIL-β-D-GLUCOSAMINIDASA A MEMBRANAS DE HIGADOS DE RATAS PRENATALES Y POSTNATALES** (Binding of N-acetyl-β-D-glucosaminidase to rat liver membranes during development) Miguel A. Sosa and F. Bertini - Inst. de Histolo. y Embriol.- Universidad Nacional de Cuyo - Mendoza (Argentina).

Las enzimas lisosomales son transportadas desde su lugar de síntesis a lisosomas por un sistema de receptores que reconocen manosa-6-fosfato (M6P). Estos receptores fueron descritos por otros autores en varios tejidos, incluido el hígado de rata. Previamente demostramos que sitios de alta afinidad para N-acetil-β-D-glucosaminidasa (NAG) están presentes en hígado de rata desde la vida fetal (Sosa et al. Mech. Ageing Develop. 40:149; 1987).

En este trabajo describimos las características del acoplamiento de NAG a membranas heáticas de fetos (18 días) y en hígados de animales adultos. No observamos mayores diferencias en los parámetros estudiados.

La M6P 20 mM inhibió entre el 60-70% del acoplamiento a membranas de ambas edades. Otros azúcares fosforilados y no fosforilados no tuvieron mayor efecto sobre el acoplamiento. El pH óptimo fue cercano al neutro y no hubo dependencia de iones bivalentes para el acoplamiento a ambas edades. Las enzimas fetales mostraron cierta sensibilidad al tipo de buffer utilizado y a pequeños cambios de fuerza iónica.

Concluimos que los receptores de hígados fetales tienen similares características a los de animales adultos en cuanto al acoplamiento de NAG. Queda sin explicar por qué las enzimas fetales no tienen afinidad por los receptores adultos.

LANTANIDOS COMO SONDAS PARA EL SITIO DE UNION DE CALCIO EN LA TUBULINA. (Lanthanides as probes for the calcium binding site in tubulin). \*Soto, C., Venegas, J., De la Cerda, M.S. y Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La tubulina es un dímero que posee en su estructura la información para formar microtúbulos. El calcio despolimeriza los microtúbulos e inhibe la polimerización de tubulina.

Para investigar el mecanismo de inhibición por calcio, hemos utilizado el Gadolinio ( $Gd^{+3}$ ) que presenta el mayor efecto inhibitorio, observándose que a  $100 \mu M$  provoca un 13,4% de despolimerización de microtúbulos con respecto a  $Ca^{+2}$   $1 mM$ . La inhibición producida por  $Ca^{+2}$ , Neodimio ( $Nd^{+3}$ ), Europio ( $Eu^{+3}$ ), Terbio ( $Tb^{+3}$ )  $100 \mu M$  fue de 12,1 %; 8,7 %; 0,98 % y 0,83 %, respectivamente. En experimentos preliminares hemos encontrado que  $Gd^{+3}$  y  $Nd^{+3}$  inhibirían la polimerización de tubulina. Como parte del análisis de la unión de los lantánidos a la tubulina, estudiamos el apagamiento de la fluorescencia intrínseca de la proteína provocado por  $Eu^{+3}$  que alcanza un valor máximo de 15% a una concentración de  $100 \mu M$ . Análisis de la unión de  $Eu$  a tubulina muestra 2 tipos de sitios: en promedio 28 de alta afinidad ( $K_d = 2,5 \mu M$ ) y 33 de baja afinidad ( $K_d = 15 \mu M$ ). Los resultados en conjunto indican que la conducta de  $Eu^{+3}$  y  $Tb^{+3}$  es diferente de la de  $Ca^{+2}$  y que  $Nd^{+3}$  y  $Gd^{+3}$  serían buenas sondas para estudiar la interacción de  $Ca^{+2}$  con la tubulina. Hay que destacar que a altas concentraciones de los lantánidos (sobre  $1 mM$ ) se produce aumento de la turbidez lo que impide usar concentraciones similares a las de  $Ca^{+2}$  para obtener un máximo de inhibición. Este problema se estudiará aislando la región carboxilo terminal de ambas subunidades de tubulina donde se ubica el sitio de alta afinidad para  $Ca^{+2}$ .

Financiado por proyecto FONDECYT y DTI. \*Becario Fundación Andes.

DAÑOS ESTRUCTURALES DEL PENTAFLUOROFENOL SOBRE BICAPAS LIPIDICAS. (Structural Damage of Pentafluorophenol on Phospholipid Bilayers). Suwalsky, M. y Espinoza, M.A., Laboratorio de Rayos X, Departamento de Química, Universidad de Concepción.

El Pentafluorofenol (PCF) y su sal sódica son ampliamente utilizados como fungicidas, especialmente en la preservación de la madera. Sin embargo, es un serio contaminante que ha producido varios casos de muerte por envenenamiento. Sus efectos tóxicos se manifiesta a nivel de las membranas celulares produciendo el desacomplamiento de la fosforilación oxidativa y la alteración del sistema de transporte de electrones y aminoácidos. También afecta propiedades físicas tales como la permeabilidad a los iones  $H^+$  y el desarrollo de potenciales interfaciales negativos. Por estas razones pareció de interés estudiar como el PCF afecta la estructura de la parte lipídica de las membranas biológicas.

El presente estudio se efectuó por difracción de rayos X en bicapas fosfolípicas constituidas por la dimiristoilfosfatidilcolina (DMFC) y la dimiristoilfosfatidiletanolamina (DMFE), a las que se agregó PCF.Na en variadas proporciones. Los resultados obtenidos indican que en ausencia de agua el PCF en la proporción molar de 1:1 logra alterar las estructuras de ambos fosfolípidos. También se observó que la estructura de la DMFC era totalmente destruida por una solución 0.02 M de PCF. Resultados similares fueron obtenidos en bicapas de DMFE pero con soluciones 0.5 M.

Financiado con proyectos FONDECYT (0783-88) y de la Universidad de Concepción (20.13.60).

LAS MUTACIONES DOMINANTES LETALES INDUCIDAS POR MITOMICINA C (MC) EN ESPERMATOCITOS NO SE DEBEN A MUERTE CELULAR (Mitomicin C-induced dominant lethal mutations in spermatocytes are not due to cell killing). Soto, J.P.; Orellana, M.N.; y Lafuente, N., Fac. de Odontología, Univ. de Chile.

MC induce Mutaciones Dominantes Letales en espermátida temprana y espermátocito de ratón, pero no lo hace en espermátida tardía y espermatozoide. (Ehling, 1971). Katrochvilova en 1973, informó que la droga produce un alto porcentaje de huevos no fertilizados al tratar machos con ella y luego cruzarlos en un tiempo post-inyección correspondiente al estado de espermátocito, sugiriendo un fuerte efecto citotóxico de MC sobre esta población celular. Para determinar si la citotoxicidad es responsable de la infertilidad inducida por MC se realizaron estudios histológicos y test de teratospermia. Se usaron 3 ratones machos (cepa CF1) de 9 semanas de edad para cada tiempo los que fueron inyectados i.p. con  $5mg/KG$  de MC de los que se obtuvieron testículo y cola de epidídimo a intervalos de 4 días durante 7 semanas. La frecuencia de teratospermia fue de 61-80 en intervalos correspondientes a 20-30 días post-inyección el que aumentó a  $\sim 200$  en el intervalo de 36 a 49 días post-tratamiento. En los tiempos anteriores a 20 días, la frecuencia corresponde al valor control i.e. 10 espermatozoides anormales/1000 espermatozoides observados, la curva de frecuencia de teratospermia presenta igual comportamiento que la curva de frecuencia de huevos infertilizados inducidos por MC. Al observar las etapas de la espermatogénesis a diferentes tiempos en cortes transversales de testículo teñidos con H-E de estos mismos machos tratados, no hay evidencia de muerte celular en espermátocito, lo que indicaría que estos últimos se desarrollan, pero sufren alteraciones en su diferenciación a espermatozoide, lo que podría ser causa de su infertilidad.

ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL DE LAS CELULAS PITUITARIAS CON EL MICROSCOPIO ELECTRONICO DE BARRIDO DE ALTA RESOLUCION (High Resolution SEM Study on The Ultrastructure Of Pituitary Cells) TAL, S. Inst. Inv. Biomed. Cs. Aplic., Univ. de Oriente, Cumaná, Venezuela.

La aparición de la Microscopía Electrónica de Barrido de Alta Resolución (FE-SEM) ha hecho más apasionante el estudio de la Biología Celular, ya que sus imágenes tridimensionales permiten establecer correlaciones con las imágenes en dos dimensiones obtenidas por los métodos de la Microscopía Electrónica de Transmisión.

Las pituitarias de pollo fueron fijadas en 0,5% glutaraldehído y post-fijadas en 0,5%  $OsO_4$ , 4 h en cada paso. Las muestras fueron congeladas y fracturadas bajo enfriamiento con  $N_2$  líquido, luego descongeladas en 50% DMSO a temperatura ambiente. Nuevamente se post-fijaron en  $OsO_4$  por 1 h y se colocaron en 0,1%  $OsO_4$  a  $20^\circ C$  por un período de 72 h, proceso conocido como MACERACION. Las muestras fueron secadas y cubiertas con Cromo. Las observaciones y fotografías fueron hechas con un FE-SEM Hitachi S-900.

La observación tridimensional de la organización celular es realmente impresionante: las células secretoras aparecen agrupadas en folículos rodeados parcialmente por nervios, los capilares se encuentran entre las células y folículos. Los diferentes tipos de células secretoras aparecen con características específicas. Se observan gránulos en diferentes estadios de su proceso de síntesis en las vesículas y cisternas del Golgi, y en el citoplasma, listos para la exocitosis. Todos los gránulos secretorios están interconectados por puentes simples o dobles. Se observa claramente la abundancia de polioomas a lo largo del Retículo Endoplasmático Rugoso y pueden incluso diferenciarse las dos subunidades que constituyen al ribosoma.

La FE-SEM ofrece, definitivamente, la mejor alternativa para obtener una imagen real de la organización intra- e inter-celular.

PROPIEDADES DE UN PROMOTOR DE GENES DE rRNA DE *Thiobacillus ferrooxidans*. (Properties of an rRNA gene promoter from *T. ferrooxidans*). Takamiya, M., Salazar, O., Vargas, D. y Orrellana, O. Depto. de Bioquímica, Fac. de Medicina, U. de Chile.

En el proceso de biolixiviación participa el *Thiobacillus ferrooxidans*. En trabajos previos informamos sobre la estructura y organización de los dos operones de RNA ribosomal presentes en el genoma del *T. ferrooxidans*, además del aislamiento a partir de una genoteca y de la caracterización parcial de un plásmido recombinante (pTR-1) que contenía un inserto que codificaba el extremo 5' de uno de los dos operones ribosomales presentes en el genoma de la bacteria. (Salazar et. al. (1989) FEBS Let. 242: 439-443)

Mediante la secuenciación de un segmento del DNA de *T. ferrooxidans*, presente en pTR-1, identificamos una secuencia de consenso para los promotores bacterianos que tiene las características de los promotores de rRNA de *E. coli*. También se identificó un segundo posible promotor. Se estudió la funcionalidad de los promotores de rRNA de *T. ferrooxidans* in vivo en *E. coli*. Para este efecto se determinó la resistencia al cloranfenicol de cepas de *E. coli* sensibles al antibiótico, conferida por transformación con un plásmido recombinante que posee el gen de la cloranfenicol acetil transferasa bajo el control de los promotores de *T. ferrooxidans*. En estas condiciones se observó crecimiento bacteriano con concentraciones del antibiótico hasta cincuenta veces superior a la máxima tolerable por las células control.

Financiado por PNUD/ONUDI y FONDECYT.

CAMBIOS PERMANENTES EN RATAS HIJAS DE MADRES EXPUESTAS A ANDROGENOS DURANTE LA PREZ. (Permanent changes in rat daughters from mothers exposed to estrogen during pregnancy). Ichernitchin, A.N., Mena, M.A., Arriaza, C. A., Unda, C., Vega-Petkovic, M.P.A., Carmona, M. y Agurto, M. Departamento de Morfología Experimental, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La exposición a algunos estrógenos sintéticos durante la vida prenatal induce cambios permanentes en la acción de dichas hormonas. En estudios que usaron técnicas bioquímicas que no discriminan entre los distintos tipos celulares uterinos, no se han detectado cambios en la acción de los estrógenos en animales expuestos a andrógenos durante la vida prenatal. Considerando que las distintas respuestas a los estrógenos pueden ser disociadas, posibles efectos de la androgenización prenatal han podido pasar desapercibidos con dichas técnicas. En el presente trabajo hemos estudiado el efecto de la androgenización prenatal sobre respuestas estrogénicas en los diferentes tipos celulares uterinos, usando técnicas morfométricas que discriminan entre ellas. Esto nos permite describir alteraciones permanentes en la capacidad de respuesta a los estrógenos en algunos tipos celulares pero no otros, que se manifiestan en la edad prepuberal como un bloqueo selectivo de la hipertrofia del epitelio endometrial, una potenciación de la eosinofilia y edema uterinos, y un incremento en la proliferación de algunos tipos celulares uterinos. Esto sugiere para la especie humana un riesgo tumorigénico y de infertilidad en hijas de mujeres que han consumido alimentos contaminados con hormonas durante su embarazo.

ESTUDIOS BIOQUIMICOS Y GENETICOS SOBRE LA CASEINA QUINASA II DE *Xenopus laevis*. (Biochemical and genetic studies of the casein kinase II from *Xenopus laevis*). Tellez, R., Jedlicki, A., y Connelly, C.C. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina y Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La caseína quinasa II (CQ-II) es una proteína quinasa presente en el núcleo y citosol de muchas células eucarióticas que parece intervenir en los procesos de síntesis de ácidos nucleicos y de proliferación celular. Hemos purificado la CQ-II presente en núcleos de oocitos hasta homogeneidad y se ha estudiado su actividad usando caseína, nucleoplasmina y un péptido modelo como sustrato. La enzima es inhibida por polipéptidos ricos en aminoácidos ácidos, destacándose la capacidad inhibitoria de los copolímeros que contienen tirosina y ácido glutámico. La IgG del copoliglutámico:tirosina (4:1) es de 25 nM mientras que para poliglutámico es de 5 uM y para copoliglutámico:alanina (6:4) es de sobre 40 uM. Es sugerente que tirosinas incrustadas en regiones ácidas son los sitios de proliferación de las tirosina quinasa que en las membranas transducen señales mitogénicas. Se está intentando clonar el gen para la subunidad alfa de la CQ-II de *X. laevis*. Para este fin se ha usado como sonda un polinucleótido sintético análogo a una región altamente conservada en las secuencias de *Drosophila* y bovino. En una genoteca de cDNA de oocitos de *X. laevis* construida en Gt10 (donada por D. Melton) se han encontrado 5 clones positivos, 2 de los cuales se están caracterizando y secuenciando. (Apoyado por FONDECYT, The Council for Tobacco Research y la Universidad de Chile.)

NIVELES DE GLUTATION REDUCIDO EN SEGMENTOS RENALES PRETRATADOS CON DIFERENTES AMINOACIDOS. SU RELACION CON PREVENCION DE DAÑO RENAL INDUCIDO POR BROMOETILANINA (BEA). Reduced glutathione levels in different aminoacid pretreated renal segments. Its relationship to prevention of BEA induced renal papillary necrosis. Thielmann, L., Rosenblut, G., De Geyter, M.A., Pepper, I., Gid, P. y Oberhauser, E. Depto. Medicina Experimental, Fac. Medicina, U. de Chile. Patrocinio: M. Vega Blanco.

El efecto protector de N-AC6 y AM2 en la necrosis papilar renal (NPR) inducida por BEA (1.2mmol/Kg) puede ser debido a una acción directa del aminoácido o a un mecanismo mediado por GSH. Se midió GSH a diferentes horas post-BEA en corteza (C), médula externa (ME) y papila (P) de ratas con pretratamientos que evitan o disminuyen NPR o que no la afectan. Grupos experimentales: N-AC (N-acetilcisteína 1.5mmol/Kg), N-AC6 (6mmol/kg), AM1 (glutamina+glicina+cistina-3+3+0.6mmol/Kg), AM2 (6+6+2mmol/kg). Los aminoácidos se inyectaron previo a BEA. La NPR inducida por BEA es prevenida por N-AC6, aminorada por AM2 y no modificada por N-AC1.5 ni por AM1. Valores de GSH encontrados: con N-AC1.5: incremento en P y ME a la 1ª hora, con posterior depleción mantenida. Con N-AC6: aumento en P a la 1ª hora y niveles posteriores normales, en ME depleción a la 6ª hora. Con AM1: incremento a las 3 hrs. en P y ME con normalización posterior en P y depleción en ME a las 6 hrs. Con AM2: niveles bajo lo normal en P y ME. En C destaca el efecto opuesto de N-AC y AM2. Con AM2 hay incremento progresivo, en cambio con N-AC6 hay depleción importante a la 1ª hora. Ambos grupos muestran un aumento significativo a las 24 hrs.

Conclusiones: no se observó correlación entre los niveles de GSH papilar obtenidos con los dos pretratamientos que modifican la NPR. La influencia que pudiera tener el GSH de C y ME en la prevención del daño papilar aún no es claro.

Proyecto D.T.I. - M 2885-8813.

LA METILACION DEL FACTOR DE ELONGACION EF-Tu AFECTA LA VELOCIDAD DE DEGRADACION POR TRIPSINA Y LA HIDROLISIS DE GTP DEPENDIENTE DE tRNA. (Methylation of the elongation factor EF-Tu affects the rate of trypsin degradation and tRNA-dependent GTP hydrolysis). Toledo, H., Jerez, C.A. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Varias proteínas componentes del aparato traduccional de *Escherichia coli* son metiladas y esenciales para el proceso de traducción durante la biosíntesis de las proteínas. Entre ellas, el factor de elongación EF-Tu posee uno o dos grupos metilo en la lisina-56. Sin embargo, la función biológica de estas modificaciones no se conoce. Con el propósito de establecer algún efecto estructural o funcional de estas modificaciones en el EF-Tu se compararon algunas propiedades del factor metilado y sub-metilado.

El factor metilado se purificó de células en fase tardía del crecimiento y el sub-metilado de células en fase temprana del crecimiento. Mediante procedimientos estándares se midió la susceptibilidad del EF-Tu a la acción de tripsina y la actividad del factor para intercambiar GDP y GTP y para hidrolizar GTP.

El factor EF-Tu metilado presentó una mayor resistencia a la acción proteolítica de tripsina que el factor sub-metilado. Por otra parte, la actividad de hidrólisis de GTP del EF-Tu estimulada por aa-tRNA en presencia de kirmicina, aumentó significativamente cuando el factor estaba metilado.

Se concluye que la metilación del EF-Tu puede proteger a la molécula de la acción proteolítica y que la modificación de la actividad de hidrólisis de GTP podría tener importancia fisiológica para la bacteria, ya que una menor actividad de hidrólisis de GTP se correlaciona con una mayor fidelidad en la traducción mediada por ribosomas.

Financiado por Universidad de Chile, PNUD/UNESCO, FONDECYT.

UNA CEPA DE *Salmonella typhi* MUTANTE DE PERMEABILIDAD ALTAMENTE RESISTENTE A CLORANFENICOL. (A *Salmonella typhi* permeability mutant strain highly resistant to chloramphenicol). Toro, C.S. y Lobos, S.R. Laboratorio de Microbiología, Unidad de Microbiología y Genética Molecular, Fac. Cs. Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: Mora, G.C.)

Se estudió un aislado clínico de *S. typhi* que presenta alta resistencia a cloranfenicol (Cam) y sin embargo, es sensible a la mayoría de los antibióticos probados. La resistencia específica para Cam en esta cepa no está conferida por la presencia de plásmidos ni por la existencia de cloranfenicol acetyltransferasa (CAT), siendo estos factores la causa de resistencia a Cam encontrados con mayor frecuencia en bacterias. Además se demostró la ausencia de cualquier otra actividad enzimática capaz de inactivar el antibiótico.

Se verificó mediante bioensayos que permiten estimar la concentración remanente de antibiótico en sobrenadantes de cultivo, que la cepa Cam denominada 1895 y sus transformantes que expresan la enzima CAT codificada en el plásmido pBR325, no eran capaces de inactivar Cam en el medio de cultivo, indicando que esta mutante presenta una severa alteración de la permeabilidad. Consecuentemente, la cepa 1895 presenta un patrón de proteínas de membrana externa (ME) carente en la porina OmpF, proteína involucrada en permeabilidad, que permite la difusión pasiva e inespecífica de solutos de bajo peso molecular. Sin embargo, en este trabajo se demuestra que la carencia de la porina no explica por sí sola la alta resistencia a Cam, pues al transformar la cepa 1895 con el plásmido pTUNB-F, que codifica para la porina OmpF de *E. coli*, se recuperan parcialmente las características de permeabilidad registradas para una *S. typhi* nativa que expresa dos porinas, OmpF y OmpC.

Paralelamente, se observa en la cepa 1895 baja expresión de la porina de *E. coli* en la ME y la aparición de OmpF propia detectable en geles, después de la transformación con pTUNB-F, hecho que nos permite postular que la regulación de la expresión de esta porina es determinante en el fenotipo OmpF<sup>-</sup> más que mutaciones en el gen estructural mismo.

Financiado por los proyectos FONDECYT 2026/87, 264/88, DIUC 071/87, FONDECYT 619/89.

HISTONAS DE *TRYPANOSOMA CRUZI*. SU CARACTERIZACION Y COMPARACION CON EUKARIOTES SUPERIORES (Trypanosoma cruzi histones. Characterization and comparison with higher eukaryotes). Toro, G.C. y Galanti, N. Depto. Biología Celular y Genética, F. Medicina, Universidad de Chile.

En el estudio de las histonas de *T. cruzi* aún no se han resuelto problemas fundamentales tales como: i) su caracterización sistemática; ii) la presencia de H1 y de variantes; iii) la comparación de histonas de *T. cruzi* con las de eucariotes superiores.

Se extrajeron histonas de cromatina aislada de epimastigotes de *T. cruzi* y se fraccionaron por PAGE en Tritón-urea-ácido acético. La histona H1 se caracterizó por sus propiedades de solubilidad y reactividad inmunológica con un antisuero específico. Se observó variantes de histonas de *T. cruzi* por electroforesis en dos dimensiones. El peso molecular de cada histona del parásito se estimó por PAGE en geles de urea-ácido. Finalmente, se observó diferencias de movilidad electroforética entre histonas de *T. cruzi* y de erizo de mar, bovino o rata, en tres sistemas diferentes de geles.

Se concluye que las histonas de *T. cruzi* comparten características fisicoquímicas e inmunológicas con las de eucariotes superiores, aunque sus pesos moleculares y movilidades electroforéticas son claramente diferentes. (Financiado por FONDECYT; WHO/WB/PNUD; OEA; TWAS; DTI, Universidad de Chile).

LA DISTRIBUCION DE CITOCROMO-OXIDASA REFLEJA LA SEGREGACION DE AFERENCIAS PRIMARIAS EN EL NUCLEO DEL TRACTO SOLITARIO. (Cytochrome-oxidase distribution reflects the segregation of primary afferents in the nucleus of the solitary tract). Torrealba, F., Calderón, F. y Muñoz, M. Depto. Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile.

En nuestro laboratorio estamos caracterizando las vías nerviosas viscerales en cuanto al tipo de aferencia periférica predominante: rápida (miélnica) o lenta (amiélnica). En gatos usamos el transporte axonal de WGA y la degeneración walleriana en el nervio vago para demostrar que las aferencias amiélnicas hacen sinapsis en subnúcleos mediales del núcleo del tracto solitario (NTS) bilateralmente; en cambio las aferencias miélnicas proyectan a los subnúcleos laterales y ventrales del NTS ipsilateral.

La literatura indica que la frecuencia de descarga espontánea y evocada es mayor en las aferencias primarias miélnicas que en las amiélnicas. Ello sugiere que las neuronas que reciben el primer tipo de aferencias tendrán un mayor metabolismo oxidativo, el cual puede evaluarse a nivel celular midiendo la actividad de la enzima mitocondrial citocromo-oxidasa (C.O.).

Se estudió la distribución de C.O. en secciones del NTS de gatos; la enzima se evidenció histoquímicamente, y se midió su actividad relativa con un microdensitómetro acoplado al microscopio. Encontramos que los subnúcleos laterales y ventrales tenían una mayor actividad de C.O. ( $p < .01$ , test Student) que los subnúcleos mediales, y que a mayor inervación por aferencias miélnicas, mayor actividad de C.O. Con ello mostramos que la segregación de aferencias en el NTS se manifiesta funcionalmente a nivel de la segunda neurona visceral sensorial, ya que la C.O. está presente principalmente en dendritas y soma, y no en terminales axonales. (TINS 12, 1989:94).

Financiado por proyecto FONDECYT 317/88.

**SINTESIS, DEGRADACION Y LOCALIZACION DE PROTEOGLICANES SULFATADOS EN LARVAS VELIGERAS DE *C. concholepas*.** (Synthesis, degradation and localization of proteoglycans in veliger larvae of *C. concholepas*). Tremblay, C., González, M. y Brandan, E. Unidad Neurobiología Molecular, Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Estamos interesados en determinar los eventos moleculares asociados al desarrollo de *C. concholepas*. Se ha demostrado que la expresión de macromoléculas sulfatadas es de vital importancia en el desarrollo de invertebrados marinos. Por ésto, hemos estado evaluando la síntesis, degradación y localización de macromoléculas sulfatadas en larvas veligeras de este organismo.

Hemos encontrado que la presencia de  $SO_4^{=}$  en el agua de mar gatilla y estimula la sulfatación de proteoglicanos interfiriendo además con el movimiento de la larva. Experimentos preliminares de pulso-caza sugieren que la cinética de degradación de estas macromoléculas es bifásica con tiempos de vida media de 32 y 95 horas. Anticuerpos monoclonales fueron generados contra estos proteoglicanos. Uno de ellos, el mAbH6 localiza preferentemente al material inmunoreactivo en la región de la protoconcha larval.

Estos resultados sugieren que el ion sulfato presente en el agua de mar es clave para la expresión y síntesis de macromoléculas sulfatadas las cuales presentan una alta velocidad de recambio y una localización celular precisa y definida.

Financiado por IPS 1407/1; FONDECYT 569/89; FONDECYT-Sectorial "Loco".

**EFFECTO DEL ENVEJECIMIENTO EN LAS PROTEINAS DELLENTE OCULAR** (Effects of aging on the Rat Lens Proteins). Ugarte, R., Edwards, A.M. y Diez, M. Laboratorio de Proteínas y Alimentos. Facultad de Química. P. Universidad Católica de Chile.

Entre los procesos de envejecimiento es importante la aparición de cataratas en el lente ocular. El 35% del peso húmedo y casi todo el peso seco del lente es proteína. Más del 90% corresponde a un tipo de proteína estructural específico, conocidas como cristalinos. Las tres principales familias de cristalinos presentes en mamíferos son los  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  cristalinos. Se estudió el envejecimiento del lente ocular de ratas (Wistar) de 35, 65, 95, 200 y 360 días de edad. Las fracciones  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  se obtuvieron por filtración en Sephadex G-100. Se midió fluorescencia y absorbancia. Se determinó grupos -SH según Ellman. Al aumentar la edad de las ratas cambia la proporción de las proteínas del lente, disminuyendo la de menor peso molecular, y cristalino, y aumentando la de mayor tamaño molecular,  $\alpha$  cristalino. Junto con esto, disminuyen los -SH libres en los tres tipos de cristalinos y en la proteína soluble total, en la que también se observa una disminución de los -SH totales. Los  $\lambda_{max}$  para  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  cristalinos fueron 340nm, 340nm y 330nm y no se observó cambio al aumentar la edad. Sin embargo, se observó una disminución en los rendimientos cuánticos de fluorescencia y un aumento en la accesibilidad de los residuos de Trp a apagadores de tipo iónico. Es interesante el caso de  $\gamma$  cristalino, que para individuos muy jóvenes presenta una bajísima accesibilidad, lo que junto con su  $\lambda_{max}$  estaría indicando que sus Trp serían muy internos. Para todas las edades se encontró la presencia de riboflavina endógena en la proteína soluble. Esto tiene relevancia ya que la formación de cataratas se ha asociado a la acción de la luz vía sensibilizadores tales como esta vitamina. También se ha descrito la unión de la riboflavina a las proteínas del lente ocular.

Financiado por proyecto FONDECYT 0389/89.

**INDUCCION DE CAMBIOS LIPIDICOS EN LEISHMANIA MEXICANA DURANTE EL CHOQUE TERMICO.** (Induction of lipidic changes in *Leishmania mexicana* during heat-shock.) Urdaneta, J., Hernández, A.B. Cátedra de Parasitología, Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela. Centro de Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela.

*Leishmania spp* tiene dos variantes morfológicas dentro de su ciclo de vida, la forma promastigote y la forma amastigote. Es posible mediante el aumento de temperatura de 25° a 35°C (choque térmico) inducir la transformación de la forma promastigote a la forma parecida a la amastigote. Durante el proceso se observa la formación de gotas lipídicas lo cual sugiere la intervención del metabolismo de los lípidos. Con esta información se decidió estudiar el comportamiento de los fosfolípidos (FOS), esteroides (ES), triglicéridos (TG), y ésteres de esteroides (EE) durante el choque térmico. El contenido de lípidos se analizó por densitometría indirecta de los cromatogramas de capa fina y se determinaron los patrones de incorporación de  $^{14}C$ -acetato en los FOS, ES, TG y EE. Con respecto a la composición porcentual relativa de los lípidos mencionados se observó una disminución en los FOS y ES y un aumento de los TG y EE. El análisis de incorporación de acetato reveló una inhibición del paso metabólico TG-FOS, y cambios en la velocidad de síntesis tales como el aumento de la de los EE, la no variación de la de los TG y la disminución de la de los FOS, ES y AG.

**EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE ESTRADIOL SOBRE ADQUISICION DE RESPUESTAS CONDICIONADAS EN RATAS OVARIETOMIZADAS** (Effects of estradiol administration on acquisition of conditioned responses in ovariectomized rats). Urresta, F. Depto. Preclínicas, Div. Oriente, Fac. de Medicina, Universidad de Chile. (Patrocinio: S. Mora).

Anteriormente hemos demostrado que en la rata hembra se produce una alteración en el aprendizaje de respuestas condicionadas de evitación activa (RC), en particular en las etapas de estro y metaestro. Este trabajo estudia la participación de estradiol en esta alteración conductual.

Se utilizaron ratas Sprague-Dawley hembras de aproximadamente 200 gr., las cuales fueron sometidas a castración bajo anestesia éterea. Estradiol fue inyectado 14 días después de la castración, en dosis única de 2 y 20  $\mu$ g/rata. La adquisición de RC se estudió 3, 24, 48 y 72 horas después de la inyección de la hormona o solvente, siguiendo un esquema de 50 ensayos a intervalos de 30 ses entre sí.

Estradiol produjo modificaciones en la adquisición de RC, dependientes de la dosis. 20  $\mu$ g provocaron un aumento de la respuesta, la cual volvió a su nivel basal a las 48 hrs. La dosis menor provocó una inhibición del condicionamiento que fue máxima a las 48 hrs. Esto lleva a pensar que el deterioro del condicionamiento durante el estro, en la rata intacta se debe a la caída de los niveles plasmáticos de estroenos.

Proyectos FONDECYT 1684/89 y DTI B-2767.

**PRESENCIA DE U-RNA EN EL ESPERMIO DE RATA.** (Presence of U-RNAs in the rat sperm). Urzua, U., Pessot, C., Brito, M. y Concha, I.I. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Recientemente hemos demostrado la presencia de RNA en el espermio de rata y humano (Pessot y col. BBRC, 158, 272-278, 1989). El análisis electroforético del RNA extraído del espermio de rata mostró bandas con idéntica movilidad que los RNAs U1, U2, U4, U5 y U6 de células HeLa. El RNA total de espermio se separó por electroforesis en poliacrilamida (10% - 7 M urea) y se transfirió a nitrocelulosa. Las membranas se hibridaron con sondas sintéticas de DNA marcadas con 32-P y complementarias a los RNA U1, U2 y U4. El análisis autoradiográfico mostró que las bandas hibridadas corresponden a U1, U2 y U4 de células HeLa. Consecuente con esto, se encontró que entre las proteínas del espermio de rata existen proteínas inmunoreactivas al suero anti-Sm, el cual reconoce las proteínas asociadas a los U-RNA. Las proteínas inmunoreactivas muestran pesos moleculares semejantes pero no iguales a los polipéptidos de snRNP de células HeLa. Esto está de acuerdo a la diferencia en tamaño de las proteínas Sm descritas en otras especies. Inmunocitoquímica para microscopía electrónica con el suero anti-Sm demostró que sólo el núcleo del espermio era inmunoreactivo, lo que sugiere que los U-RNA, como snRNP, serían componentes nucleares en el gameto. El significado de estos resultados será discutido. (Financiado por FONDECYT N° 942-88, S.Volkswagen I/61/457, y DIC-UACH 8-85-10).

**FACTORES QUE REGULAN LA INDUCCION DE LA OXIDACION DE ANDROSTENEDIONA POR FENOBARBITAL EN MICROSOMAS DE HIGADO DE RATAS.** (Induction of androstenedione oxidation by phenobarbital in rats liver microsomes. Regulatory factors). Elena Valdés, Myriam Orellana Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Trabajos realizados en nuestro laboratorio, han demostrado que la oxidación de hormonas esteroidales catalizadas por citocromo P-450, es dependiente del sexo y del estado nutricional (Int. J. Andrology 11: 339-348, 1988) (In: Cytochrome P-450 Biochemistry and Biophysics 862-865. Eds. Taylor and Francis 1989). Androstenediona (A), es una prohormona esteroide que es hidroxilada regio y estereoespecíficamente en las posiciones 2  $\beta$ , 6  $\beta$ , 7  $\alpha$ , 16  $\alpha$  y 16  $\beta$ , por el sistema de monooxigenasas dependientes de citocromo P-450.

En este trabajo se presenta un estudio sobre la inducción del fenobarbital (F.B.) en la hidroxilación de (A), investigándose además el efecto del sexo y estado nutricional. El F.B. induce la actividad oxidativa total en todos los grupos estudiados. Este incremento se debe principalmente a un aumento en la actividad hidroxilante en posición 16 (hasta un 500%), la cual es sexo dependiente por cuanto en machos la actividad aumenta a 5.5 veces respecto a las hembras.

La inducción también ocurre en animales desnutridos, aun que el efecto dependiente del sexo aparece disminuido por la desnutrición.

Estos resultados sugieren que el F.B. induce selectivamente las isoenzimas responsables de la oxidación en posición 16, especialmente la isoenzima P-450 2c característica de machos.

Proyecto Financiado por FONDECYT 0863.

**DERMATITIS CERCARIAL: PRIMER REGISTRO EN CHILE**  
(Cercarial Dermatitis: First Record in Chile)

Valdovinos, C.\*, Stuardo, J.\* y Ferrón, S.\*\*  
\*Departamento de Oceanología, Fac. Cs. Biol. Rec. Nat., Universidad de Concepción. \*\*Fac. de Medicina, Div. Cs. Sur., Universidad de Chile.

Se dan a conocer dos registros de "dermatitis cercarial" (o dermatitis de los nadadores), ocurridos en el Lago General Carrera (sur de Chile, 46° 30'S; 72° 00'W), en febrero de 1987.

Los individuos afectados habían expuesto sus piernas, sumergiéndolas en la zona ribereña del lago durante aproximadamente 40 minutos, hasta que el ardor fue intenso. En ese momento el eritema fue muy marcado, extendiéndose homogéneamente en ambas piernas. Luego de secadas ambas extremidades, la reacción cesó en aproximadamente 30 minutos.

Se encontraron 4 especies de gastrópodos que se consideraron como posibles vectores: Chilina ovalis (Chiliniidae), Littoridina cumingi (Amnicolidae), Physa chilensis (Physidae) y Lymnaea viator (Lymnaeidae), pero tan sólo en ésta última se encontraron esporocistos, redias y cercarias, las cuales pueden corresponder a algún esquistosómico (no identificado), parásito terminal de vertebrados patagónicos.

Este incidente representa el primer llamado de atención a la existencia de éste tipo de parásitos en Chile.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 088/87.

**CONTAMINACION DE RECURSOS ACUATICOS EN EL CURSO INFERIOR DEL RIO BIOBIO: SENSIBILIDAD DE PECES NATIVOS E INTRODUCIDOS AL TEST DE MICRONUCLEOS** (Contamination of aquatic resource in lower Biobío River: Sensitivity of native and introduced fish to the micronucleus test). Valenzuela, C.; Gavilán, J.F.; Chávez, R.; Almonacid, M.E. Laboratorio de Genética. Depto. Biología Molecular. U. de Concepción, Chile. (Financiado por Proyecto EULA 30.00.01 y Proyecto DIC 20.31.22).

Recientemente la U. de Concepción y la Comunidad Económica Europea han formulado un Proyecto de Cooperación dirigido a evaluar, entre otros aspectos, aquellos parámetros que tienen relación directa sobre la calidad del agua del río Biobío. El objetivo final del Programa EULA es formular políticas de manejo más racional del recurso hídrico tanto en la Cuenca del río como en la Plataforma Continental Adyacente.

El presente trabajo intenta determinar la sensibilidad de peces Nativos (Cheirodon galusdae y Percilia erwinii) e introducidos (Gambusia affinis) para el objeto de ser utilizados como modelos biológicos para detectar la posible genotoxicidad de agentes químicos presentes en el curso inferior del Río Biobío y provenientes de las industrias situadas especialmente en el curso inferior del Río. La sensibilidad de los organismos utilizados fue estimada mediante radiación clastogénica proveniente de una bomba de cobalto. Mediante el Test de Micronúcleos (MN) se evaluó el daño clastogénico en sangre periférica. Un grupo control y tres grupos experimentales fueron tratados con 0,50, 100 y 150 rad, respectivamente, en cada especie. Se analizaron 1000 células por frotis y 4 frotis por organismo a partir de conteos hechos cada 2 días y durante los 8 días que duró el tratamiento.

Se discuten los resultados y se sugiere que estos sustratos y el Test de MN son adecuados para realizar monitoreo genético de corto término de recursos biológicos en peligro debido a la acción de agentes contaminantes presentes en cuerpos de aguas continentales.

**NIVELES DE APIRASA EN UTERO Y GLANDULA MAMARIA DE RATAS DURANTE EL CICLO PREÑEZ-LACTANCIA.** (Changes in apyrase levels in rat uterus and mammary gland through the pregnancy-lactation cycle). Valenzuela, M.A.; Kettlun, A.M. y Pieber, M. Depto. Bioquímica y Biología Molecular. Fac. Cs. Qcas. y Farmacéuticas. U. de Chile.

La función fisiológica que desempeña la apirasa, enzima que se detecta por la hidrólisis de derivados di y trifosforilados orgánicos e inorgánicos, es desconocida. Se le ha propuesto una función directa de inhibición de la agregación plaquetaria (por su actividad ADP-ásica) y una función en la secreción glandular. Se escogió el útero y glándula mamaria de ratas para determinar cambios en los niveles de apirasa en el ciclo preñez-lactancia, puesto que en este período hay diferenciación celular en ambos tejidos, transformándose éstos en tejidos secretores.

Una disminución significativa de la actividad apirásica se observó en el útero preñado, y en cambio, en glándula mamaria aumentaron los niveles de las actividades ATPásica y ADP-ásica.

En la glándula mamaria durante la lactancia se apreció un aumento mayor de la actividad ATPásica sobre la ADPásica pero el uso de ouabaína y oligomicina discriminan que el aumento de la actividad ATPásica se debió a una actividad mitocondrial.

Estos resultados sugieren que la apirasa podría cumplir una función importante de evitar hemorragias durante preñez en el útero. A su vez el aumento de esta enzima en glándula mamaria durante la lactancia permite postular su posible participación en la secreción láctea. Su actividad pirofosfotransferasa podría ser esencial para la glicosilación de proteínas.

**ESTUDIOS FARMACODINAMICOS CON ANALOGOS ESTRUCTURALES DE B-ENDORFINA EN EL CONDUCTO DEFERENTE DE RATON.** (Pharmacodynamics of B-endorphin synthetic analogs in the mouse vas deferens). Valenzuela, R. y Lewin, J. Unidad Regulación Neurohumoral, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

En la búsqueda de antagonistas peptídicos de los opiáceos, se observó que dos derivados sintéticos de B-endorfina (BE), la [Gln<sup>8</sup>,Gln<sup>31</sup>]-BE-Gly-Gly-NH<sub>2</sub> (Gly-BE) y la [Arg<sup>9,19,24,28,29</sup>]-BE (Arg-BE), presentan actividad de agonistas-antagonistas en estudios de analgesia. Para examinar su posible acción como agonista-antagonista sobre receptores delta-opiáceos, se utilizó la preparación del conducto deferente del ratón, modelo biológico clásico para estudiar la acción de delta-opiáceos.

Conductos deferentes de ratones Swiss Webster, superfundidos in vitro, se estimularon transmuralmente (70 V, 0,15 Hz, 1 msec). La potencia relativa de los agonistas examinados fue: metionina-encefalina (ME) > Arg-BE > BE > Gly-BE. Pretratamiento con 30 nM B-FNA (antagonista mu-opiáceo selectivo, con característica de bloqueo sin acción de masa) disminuyó 7 y 9 veces la potencia de BE y Arg-BE, respectivamente, pero sólo 2,8 y 3,3 veces la potencia de ME y Gly-BE. En cambio, pretratamiento con 30 nM naltrindol (antagonista preferencial delta-opiáceo) redujo la potencia de ME 77 veces, pero sólo alrededor de 10 veces la de BE, Arg-BE y Gly-BE. Los derivados Arg-BE y Gly-BE no antagonizaron la actividad de BE ni de ME. Está en estudio la interacción de Nor-BNI (antagonista preferentemente kappa-opiáceo) con Arg-BE y con Gly-BE.

De estos resultados se puede concluir que: 1) la Arg-BE, al igual que BE, tiene afinidad por sitios mu y delta-opiáceos, a diferencia de Gly-BE y ME que tienen mayor afinidad delta-opiácea; 2) ninguno de los 2 péptidos tiene propiedades de agonista-antagonista en este bioensayo.

Financiado por proyecto FONDECYT 0305/88.

**EFFECTO DEL CONTENIDO PROTEICO DE LA DIETA EN LA DEPENDENCIA AL AGUA EXOGENA DE ROEDORES DE CHILE** (Effect of protein content of the diet in the water exogenous dependence in Chilean rodents). Valverde, V.M. y Correa, F.R. Depto. de Biología y Química, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena. (Patrocinio: C. Palea R.)

Estudios del metabolismo hídrico en roedores indican que el aumento del contenido proteico de la dieta determina una mayor carga de nitrógeno que es excretado principalmente como urea, provocando mayor arrastre de agua; condición que debería afectar los requerimientos de agua *ad lib.* y el grado de dependencia al agua exógena.

Con el fin de testar la hipótesis propuesta, se evaluaron los efectos de dietas con contenidos proteicos de 14% (D1) y 20% (D2) en los requerimientos del agua *ad lib.* (RH) y en el grado de dependencia al agua exógena DAE (como velocidad de pérdida de peso corporal) en los roedores *Octodon degus*, *Abrothrix xanthorhina*, *A. andinus* y *A. olivaceus*. Los animales fueron mantenidos en jaulas individuales bajo condiciones de laboratorio, los experimentos se llevaron a cabo en animales aclimatados (1 a 2 semanas).

Los resultados indican que las especies en estudio presentan: 1) mayor RH cuando son mantenidos con D2 y 2) mayor velocidad de pérdida de peso corporal con D2.

Los resultados sugieren que el contenido proteico de la dieta tiene efectos significativos en los requerimientos de agua *ad lib.* y en el grado de dependencia al agua exógena, lo que puede tener gran implicancia especialmente en especies que habitan en ambientes áridos. (Proyecto FONDECYT 88-1013)

**ESTADOS DE AGREGACION DE HEXOQUINASAS DE POLLO Y DE RATA INDUCIDOS POR SUSTRATOS O PRODUCTOS** (Aggregation states of chick or rat hexokinases induced by substrates or products). Varela, P. y Ureta, T. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Las hexoquinasas (HK) de cerebro de vertebrados son monómeros de 100 kDa. Los sustratos (glucosa, ATP) o productos (glucosa-6-P, ADP) inducen cambios conformacionales en las HK y probablemente también cambios en su estado de polimerización. Para estudiar estos últimos se utilizó la técnica de electroforesis descripta recientemente por Retamal y Babul (*Anal. Biochem.* 175, 544-547, 1988) que permite estimar la masa molecular en ausencia de agentes desnaturantes.

Se purificaron a homogeneidad las HK de cerebro de rata y de pollo. La masa molecular en presencia de SDS es casi idéntica en ambas HK. En cambio, se observaron diferencias marcadas al usar electroforesis en geles de poliacrilamida con un gradiente transversal, en ausencia de SDS. En ausencia de ligandos la HK de rata presentó una sola forma de 100 kDa, en tanto que con HK de pollo se observó la presencia de dímero y trímero. En ambas enzimas las bandas de proteína coincidían con bandas de actividad enzimática. En presencia de glucosa-6-P la HK de rata migró principalmente como monómero pero la HK de pollo, en cambio, mostró varias formas. En presencia de ATP predominaba el estado monomérico de ambas enzimas.

Se concluye que ATP es capaz de inducir cambios en el estado de agregación de las HK, efecto que es más evidente en el caso de HK de pollo. (Proyecto B-1989, Departamento Técnico de Investigación, Universidad de Chile).

**EXPRESION TEMPORAL Y ESPACIAL DE LA ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA EN EMBRIONES PREIMPLANTACIONALES DE RATON** (Temporal and spatial expression of the Alkaline Phosphatase Activity on preimplantation mouse embryos). Vargas, V., Peña, P., Orihuela, P. & Ibarra, V. Laboratorio de Reproducción y Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Apartado 2647, Lima 1, Perú.

La regionalización de la membrana celular, en embriones preimplantacionales de ratón, es reconocida por la actividad de la fosfatasa alcalina (AFA) a partir de la interfase del segundo ciclo celular, distinguiéndose a lo largo de la zona de contacto interblastomérico.

Se estudió la expresión de la actividad enzimática inicial y la forma secuencial de su aparición durante el estado de 4 células; para ello se obtuvieron embriones preimplantacionales a las 46, 50 y 54 horas de desarrollo, los que fueron sometidos a la técnica citocimática del citrato de plomo, según el método de Gomori adaptado por Izquierdo et al. (1980), para identificar la AFA a través de la microscopía de luz.

A las 46 horas de desarrollo, el 75% de los embriones de 4 células fueron AFA negativos, el 22,1% presentó AFA positiva a modo de parches discontinuos entre algunos blastomeros y los contactos interblastoméricos y 2,9% mostraron una actividad típica a lo largo de todos los contactos celulares. A las 50 horas de desarrollo el 26,5% mostraron AFA negativa, 19,5% AFA a modo de parches y 44,3% AFA típica. Finalmente a las 54 horas de desarrollo el 17,2% evidenciaron AFA negativa, 9,4% AFA a modo de parches y 73,4% una AFA típica.

Nuestros resultados demuestran que la AFA va apareciendo en forma paulatina y secuencial en el tiempo, sugiriendo que la regionalización de membrana ocurriría primero entre los blastomeros que tienen un mayor tiempo de contacto.

**EFFECTO DE ESTRADIOL EN LA SINTESIS DE PROGESTERONA EN CELULAS LUTEAS HUMANAS.** (Estradiol effect on progesterone synthesis by human luteal cells). Vega M., Castro O. Dpto. Biología Celular y Genética e Inst. Inv. Materno Infantil, H.P. Jaraquemada, Fac. Medicina, U. de Chile.

Existen antecedentes que señalan que el estradiol ( $E_2$ ) puede estimular o inhibir la síntesis de progesterona ( $P_4$ ) en distintos tejidos esteroideogénicos. Esta acción puede afectar diversas etapas de la síntesis de  $P_4$ . El objetivo de este trabajo es estudiar la acción de  $E_2$  en la síntesis de  $P_4$  en células obtenidas de mitad de fase lútea. La obtención de estas células se realizó de acuerdo a metodología previamente descrita (Fert Steril 51:628, 1989). El efecto de  $E_2$  (0,1  $\mu$ M a 2,5  $\mu$ M) sobre la síntesis de  $P_4$  se midió en cultivos de 24 h de células lúteas, con o sin hCG (10 UI/ml) y pregnenolona ( $P_5$ ; 0,1  $\mu$ M). Se determinó  $P_4$ ,  $E_2$ ,  $P_5$  y 20 $\alpha$ hidroxiprogesterona (20 $\alpha$ DHP $_4$ ) por RIA específicos, siendo  $P_5$  y 20 $\alpha$ DHP $_4$  previamente purificados por columnas LH-20. Resultados preliminares muestran que la síntesis basal de  $E_2$  a las 24 h es de 10 nM; la cual disminuye al aumentar la concentración de  $E_2$  (0,1  $\mu$ M a 2,5  $\mu$ M) adicionada al medio, observándose una inhibición del 70% con 2,5  $\mu$ M de  $E_2$ . Similar efecto se encuentra en presencia de hCG +  $E_2$  (62%). Por otro lado,  $E_2$  (1  $\mu$ M) produce una acumulación de  $P_5$  del 64%, la cual se incrementa significativamente con hCG +  $E_2$  (1,6 veces vs 2,8 veces). Estos resultados preliminares indican que, en nuestro sistema experimental, la inhibición de la síntesis de  $P_4$  por  $E_2$  es dosis dependiente, sugiriendo que uno de los probables sitios de la acción inhibitoria del  $E_2$  en células lúteas humanas sería en la conversión de  $P_5$  a  $P_4$ .

Fondecyt 0870 ; Rockefeller Foundation GAPS 8845.

**INHIBICION DE LA RESPIRACION CELULAR DE TRYPANOSOMA CRUZI POR ESTERES DEL ACIDO GALICO** (Inhibition of respiration of Trypanosoma cruzi by gallic acid esters). Vázquez, X., Montverde, P., Coloma-Torres, L. (\*), Urzúa, P. (†) & Aguante, J. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (\*) Departamento de Biología, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación.

En trabajos previos de nuestro laboratorio hemos concluido que los antioxidantes fenólicos BHA y BHT presenta actividad tripanocida, al bloquear la respiración celular del *T. cruzi* en el segmento NADH-citocromo b de su cadena respiratoria mitocondrial. En esta oportunidad se estudió los efectos sobre el crecimiento en cultivo en medio Diamond de las formas epimastigotas de este parásito y el efecto sobre el consumo de oxígeno de los epimastigotas intactos de *T. cruzi* de una serie de antioxidantes fenólicos derivados del ácido gálico (Metilgalato Propilgalato, Octilgalato y Laurilgalato).

El crecimiento de los cultivos se siguió por nefelometría y el consumo de oxígeno se cuantificó polarográficamente con un electrodo de Clark. Se pudo establecer que los diferentes ésteres estudiados afectan en forma diferente el crecimiento en cultivo de las formas epimastigotas del protozo. La diferencia se establece que al incrementar el largo de la cadena alifática del alcohol que sustituye el ácido, mayor es la inhibición de crecimiento que se alcanza. El ácido gálico no afecta el crecimiento, en cambio todos los ésteres estudiados presentan un efecto inhibitorio de crecimiento. El grado de inhibición alcanzada es la siguiente: metilgalato < propilgalato < laurilgalato.

El efecto sobre el consumo de oxígeno también se relaciona con la extensión de la cadena alifática de éster. Los valores de I 50 (concentración de inhibidor necesaria para afectar en un 50% la respiración celular) para los diferentes compuestos es la siguiente: Ácido gálico > 40 mM, Metilgalato 29,3 mM, Propilgalato 6,7 mM, Octilgalato 0,13 mM y Laurilgalato 0,14 mM.

En resumen, se puede establecer que la acción tripanocida de estos compuestos se relaciona con su hidrofobicidad, lo cual establece que los ésteres de mayor cadena (Octilgalato y Laurilgalato) son factibles de estudiar como agentes antichagásicos experimentales.

Financiado por: FONDECYT, O.E.A. y DTI U. de Chile.

**METABOLISMO HEPATICO DE DROGAS EN RATAS CON DIABETES EXPERIMENTAL AGUDA Y CRONICA.** (Effects of acute and chronic diabetes on hepatic drug metabolism in the rat). Vega, P., Gaulle, C. y Del Villar, E. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se ha demostrado que las alteraciones observadas en el metabolismo de drogas, en la diabetes inducida por agentes químicos como el aloxano, son propias de la diabetes y no efecto directo del agente diabético. En este trabajo se presentan los resultados obtenidos por efecto de la diabetes aloxánica en las actividades *in vitro* de las Fases I y II del metabolismo de drogas en ratas Wistar hembras.

El estado patológico determinó una marcada activación de algunas enzimas monooxigenasas dependientes del citocromo P-450 (Fase I) mientras que las reacciones de algunos sustratos endógenos y drogas estuvieron inhibidas (estrona y p-nitrofenol) y otras no se modificaron (morfina). Se determinaron los parámetros cinéticos de las reacciones, comparativamente con la de ratas control y ratas diabéticas tratadas con insulina.

Las preparaciones activadas con detergente sugieren que en ratas con diabetes crónica hay deficiencia de la enzima UDPGT para estrona y no sería una consecuencia de una anomalía en el ambiente fosfolipídico de la membrana. Sin embargo, el estado de diabetes agudo y crónico determinaría una mayor cantidad de algunas enzimas monooxigenasas de la Fase I.

Proyecto B-2666-8834 DTI. Universidad de Chile.

**CANALES IONICOS ASOCIADOS AL RECEPTOR DE RYANODINA DE RETICULO SARCOPLASMATICO REGISTRADOS POR TECNICA DE PATCH-CLAMP EN LIPOSOMAS FUSIONADOS.** (Patch clamp recording of ryanodine receptor channels of sarcoplasmic reticulum in fused liposomes). Vélez, R., Sierralta, J. y Suárez, B. Depto. Fisiol. & Biofísica, Fac. Medicina, U. de Chile y Centro de Estudios Científicos de Santiago.

La liberación de calcio desde el retículo sarcoplasmático (RS) de músculo esquelético durante el acoplamiento excitación-contracción (EC) se produce a través de canales de calcio.

Las membranas nativas de RS incorporadas en bicapas planas muestran un canal de calcio de alta conductancia (100 pS en 37 mM BaCl<sub>2</sub>, *trans*). Este canal es activado por ATP y Ca<sup>2+</sup> aplicado al lado mioplasmático, e inhibido por rojo rutenio y magnesio. Además, es activado por concentraciones micromolares de inositol (1,4,5)-trisfosfato (InsP<sub>3</sub>) (Suárez et al. Biophys. J. 54:737, 1988) sin alteración de la conductancia. Por el contrario, ryanodina, en el rango nanomolar, modifica el gating y la conductancia de este canal (Bull et al. Biophys. J. 1989, en prensa)

El ancho de banda limitado del registro en bicapas (<1 KHz) es una limitante importante en el estudio de canales iónicos. La fusión de vesículas de RS de músculo esquelético de rana con liposomas (Correa et al. Biophys. J. 54:569, 1988) nos ha permitido el registro de canales utilizando la técnica de patch-clamp (~10 KHz). Con este método hemos detectado un canal catiónico dependiente de voltaje, con una conductancia de 500 pS en presencia de CsCl (250 mM) simétrico. Esta elevada conductancia y resultados preliminares que muestran activación por ATP (1 mM) y aumento del número de eventos cerrados en presencia de rojo de rutenio (200 nM), sugieren que este es el canal catiónico asociado al receptor de ryanodina. Financiado por Proyectos Fondecyt #902 y #972 y Grant NIH GM-35981 a R. Latorre.

Pruebas de especificidad y sensibilidad en la detección de *Trypanosoma cruzi* por hibridación mediante sondas de DNA no radioactivas. (Specificity and sensitivity hybridization tests on the *T. cruzi* detection with non radioactive DNA probes).

J. Venegas., A. Solari., E. González y C. Vasquez. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Universidad de Talca.

La tripanosomiasis Americana o enfermedad de Chagas y la Leishmaniasis son enfermedades ocasionadas por los tripanosomatídeos *T. cruzi* y *Leishmania s.p.p.* respectivamente, las cuales afectan a una gran parte de la comunidad americana. Con el objeto de mejorar el diagnóstico parasitológico de la enfermedad de Chagas hemos utilizado el DNA kinetoplastídico (kDNA) o fragmentos clonados de kDNA como sondas en ensayos de hibridación en filtros de nylon.

En este trabajo se presentan resultados del clonamiento de fragmentos de minicírculos de kDNA y la utilización de ellos como sondas contra DNA de 54 cepas de *T. cruzi* de Chile, Bolivia, Perú, Argentina, Brasil, Colombia y Venezuela. Se utilizó como control el DNA de otros tripanosomatídeos tales como: *L.b. brasiliensis*, *L.m. amazonensis*, *L. peruviana*, *L. donovani*, *T. Brucei*, *T. rangeli* y *T. marinkelli*. Encontramos la misma sensibilidad de detección utilizando sondas de kDNA radioactivas con <sup>32</sup>P y otras no radioactivas (digoxigenina-Boehringer o biotina-BRL Blue-Gene). Por otro lado los métodos permiten detectar hasta un límite de 300 parásitos.

Financiado por PNUD/World Bank/WHO, PNUD/UNESCO y FONDECYT.

**EN EL FETO OVINO EL ALZA DE CORTISOL (F) QUE OCURRE ENTRE 125-135 DIAS DE EDAD GESTACIONAL (EG) ES INHIBIDA POR LA ENUCLEACION OCULAR (EO).** (Ocular enucleation inhibits the gestational age rise of cortisol in fetal sheep). Vergara, M., Guerrero, J.L.\*, Riquelme, R.\*, Roldán, C.\*, Serón-Ferré, M. Lab. Endocrinología, F.CC.BB., P. U. Católica de Chile y \*Lab. Fisiología y Fisiopatología del Desarrollo, Dpto. Preclínicas, Cs. Médicas Oriente, Facultad Medicina, U. de Chile.

En la oveja, F fetal induce cambios que contribuyen a la adaptación postnatal y desencadena el parto. El aumento de F fetal con la EG es más notorio desde los 130 días de gestación (término 145 días). Investigamos si existen señales ambientales que pudieran ser detectadas por el feto y que contribuyan al aumento de F con la EG. En 20 fetos de oveja (12 controles, C; 8 con EO) se midió la concentración de F por RIA. La cateterización de vena y arteria femorales y EO se realizaron a los 120-130 días de EG. Al 7° día postcirugía, se tomaron muestras de sangre cada 1 ó 2 h durante 24 h. Los animales se agruparon según EG en el día del muestreo (2 de los C fueron muestreados para ambos grupos de EG). Tanto los fetos controles como los enucleados presentaron ritmo circadiano de F. La concentración de F en 24 h fue (X ± E.S. Student t'test):

	n	EG	F (ng/ml)	n	EG	F (ng/ml)
C	7	126 ± 1	6.3 ± 1.3	7	136 ± 1	11.8 ± 1.4
EO	4	126 ± 2	5.4 ± 0.5	4	135 ± 1	6.9 ± 1.2

Los datos demuestran que la EO evita el alza de F que se observa entre 125 y 135 días (C, p = 0.009; EO, n.s.). La enucleación ocular puede alterar la percepción de una señal ambiental por parte del feto o quizás producir cambios a nivel de hipotálamo relacionados con la regulación del eje hipotálamo suprarrenal fetal.

FONDECYT 0321/88, Rockefeller HD 83016.

**EL ELECTROCITO DE RAJIFORMES: UN SISTEMA SINGULAR PARA EL ESTUDIO DEL AChRn.** (The Rajiformes electrocyte: a singular system for the study of the nAChR). Vidal, A. Prado Figueroa, M. y Barrantes, F.J. Instituto de Investigaciones Bioquímicas, UNS-CONICET, Bahía Blanca, Argentina.

Los electrocitos o electroplacas han constituido la fuente biológica más importante para el estudio del AChRn desde que Miledi y cols. (1971) primeramente los utilizaron como modelo. En el presente trabajo describimos a los electrocitos de *Psammodon* *extenta* una raya de descarga eléctrica débil. Se efectuaron cortes criotáticos del órgano eléctrico siguiendo su eje antero-posterior y luego fueron analizados al microscopio óptico y de fluorescencia. Mediante la técnica de Mos y cols. (1983) localizamos a la AChE, α-bungarotoxina-Texas red fue empleada como marcador específico del AChRn y la NBD-falacidina fue utilizada para estudiar la localización subcelular de la forma filamentosa de la actina o F-actina. La técnica PAP se empleó para revelar a los anticuerpos monoclonales (mAbs) anti-tubulina (Tu9B), anti-MAPs y anti-neurofilamentos (RT97).

El AChRn y la AChE mostraron una co-distribución a lo largo de la cara anterior o innervada del electrocito. La fluorescencia obtenida por NBD-falacidina se observó en todo el citoplasma del electrocito. Los mAbs Tu9B, anti-MAPs y el RT97 detectaron a sus respectivos antígenos en las terminales nerviosas.

De los resultados precedentes podemos concluir: 1) el electrocito de *P. extenta*, al igual que el de *Torpediniformes*, es una célula altamente polarizada presentando una región innervada: la anterior y otra posterior o no-innervada, 2) el citoplasma del electrocito está constituido principalmente por F-actina y 3) las características morfológicas que presenta el electrocito de *Rajiformes* nos permitieron aislar fácilmente estas células, lo cual abre posibilidades impensables en el caso de los electrocitos de *Torpediniformes*.

AISLAMIENTO DE CELULA DE LANGERHANS DE EPIDERMIS HUMANA. (Isolation of human epidermal Langerhans cells). Vidal M.A., Grob F. y Caorsi I. Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. (Patrocinio: M. Concha).

La célula de Langerhans (CL) representa el 3% de las células de la epidermis humana. No obstante su reducido número, juega un papel fundamental en la captación de antígenos y subsecuente estimulación de la respuesta inmune celular. Como primera etapa para el estudio de las interacciones in vitro CL-linfocito T, hemos obtenido suspensiones celulares epidérmicas enriquecidas en CL mediante centrifugación en gradiente de densidad discontinua.

Piel humana extraída con dermatomo fue incubada con tripsina 0.5% para remover la dermis. La epidermis fue tratada con DNasa 0.025%, fragmentada y filtrada. La suspensión celular fue resuspendida en medio de cultivo RPMI 1640 suplementado con suero fetal de bovino y antibióticos. El promedio de células obtenidas en cada aislamiento fue  $6 \times 10^7$  células con un 70% o más de viabilidad. De ésta suspensión, se centrifugaron  $10^7$  células/ml a 3.400g por 1 hr en un gradiente discontinua de Ficoll-metrisozato de sodio. Las CL fueron identificadas con inmunofluorescencia utilizando el anticuerpo OKT6 y a microscopía electrónica (ME) por la presencia del gránulo de Birbeck.

Este procedimiento nos ha permitido obtener una fracción celular que contiene un elevado número de CL, viables. Las CL aisladas adquieren forma redondeada y a ME presentan la ultraestructura característica de la CL en los tejidos; observándose, además, frecuentes mitosis.

Financiado por Proyectos 89-0198 Fondecyt y S-89-16 Dir. Inv. U.A.Ch.

CULTIVO PRIMARIO DE KERATINOCITOS DE LESIONES GENITALES CONTENENDO PAPILOMAVIRUS HUMANOS (Primary cultures of Keratinocytes derived from genital lesions harboring human Papillomavirus) VIEIRA, K.B.L. & VILLA, L.L. Depto. de Virología, Instituto Ludwig de Pesquisa sobre o Câncer, 01509 São Paulo - SP, BRASIL

Los Papillomavirus Humanos (HPV) pertenecen a la familia de los Papovavirus, cuya molécula de DNA dupla hebra tiene alrededor 8000 pares de bases, y están asociados a lesiones benignas del tracto anogenital bien como malignas (carcinoma de la cervix uterina). Mucho se puede conocer de la biología y comportamiento de estos virus através del desarrollo de cultivos de keratinocitos, que permiten la replicación de los mismos virus. Este trabajo tiene como proposito obtener cultivos de lesiones do tracto anogenital para el estudio y reconocimiento del tipo de HPV en ellas presente. A partir de biopsias de tejido verrucoso de penes y vagina obtuvimos cultivos primarios que fueron mantenidos en KGM (medio sintético de cultivo de Keratinocitos - Clonetics Corp, San Diego, CA) libre de soro, siendo congeladas alicuotas en cada pasaje. Los DNAs de dichas biopsias fueron extraídos y analizados por RCP (Reacción de Polimerización en Cadena) verificandose la presencia del HPV en todas las muestras y estas fueron analizadas por Southern Blot para la tipificación del HPV presente, empleandose pruebas radioactivas para HPVs de los tipos 6/11 y 16/18, los más comunes encontrados en estos tipos de lesiones. Se verifico que mediante el uso de esta metodología obtuvimos cultivos confluentes, con crecimiento acelerado en las primeras pasajes, libre de fibroblastos. En la mayoría se observo señales de diferenciación después de la 8ª pasaje.

EFECTO DE LA EXCLUSION DE HERBIVOROS EN UNA POBLACION DE Leucocoryne coquimbensis EN EL NORTE DE CHILE. (Effects of herbivore exclusion on a population of the geophyte Leucocoryne coquimbensis in Northern Chile). Vidella, P. E. y Armesto, J. J. Lab. de Sistemática y Ecología Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Al sur de Coquimbo (IV Región), una de las especies características del denominado "desierto florido" es la geófita Leucocoryne coquimbensis. En este trabajo se documenta el efecto de la exclusión de ganado y lagomorfos en la abundancia y reproducción de una población de esta especie después de un año lluvioso.

En 22 cuadrados de 30x30 cm distribuidos al azar dentro y fuera de un área cercada (1 ha) se determinó, a fines de la estación de crecimiento: el número de ejes florales, el número de cápsulas por eje floral, el número de semillas dispersadas y el número de bulbos (en 25x25x20 cm de suelo). Además se comparó la biomasa de 85 bulbos colectados dentro y 45 fuera de la parcela.

Observaciones realizadas en la época de floración mostraron que sólo había plantas con flores dentro del área cercada. Sin embargo, en la época de muestreo, la densidad de ejes florales era la misma dentro y fuera de la exclusión. El 90% de los ejes dentro del cerco tenían cápsulas, mientras que todos los ejes en el área no protegida carecían de ellas. Asimismo, en todos los cuadrados muestreados dentro del cerco había semillas sobre el suelo ( $X=3.742$  semillas  $m^{-2}$ ), mientras que afuera no se encontró ninguna. No hubo diferencias en el número de bulbos entre el interior y exterior, pero el peso de los bulbos colectados fuera de la exclusión fue mayor (1,56 vs. 1,18 g).

El estudio demuestra que las poblaciones de L. coquimbensis son capaces de reproducirse por semillas sólo en áreas protegidas del acceso de herbívoros. La baja dispersabilidad de las semillas junto con la acción de herbívoros contribuirían a la heterogeneidad espacial en la distribución de esta especie.

Financiado por Proyecto O.E.A.

AVIFAUNA HUMEDAL DE LA RESERVA NACIONAL "ESTERO YALI", V REGION, CHILE (Water Avifauna of the National Reservation "Estero Yali", V Region, Chile). Villan, T. O., López, M. V. (Patrimonio Orn. E. Bustos Obregón) Lab. Biol. Reprod., Depto. Biol. Cel. Genética, Fac. Medicina, Universidad de Chile.

\*\*Dpto. Ecología, Fac. de Ciencias, Universidad de Chile.

El humedal formado por la desembocadura del Estero Yali ( $33^{\circ}47' - 71^{\circ}23' S.$ ) ha sido declarado Reserva Nacional. Desde fines de Abril de 1989 se estudia la diversidad y abundancia de la avifauna que está directamente asociada al humedal, poniendo especial énfasis en las aves migratorias, se pretende determinar su importancia en la conservación de estas aves.

Los censos realizados mensualmente han permitido reconocer 84 especies de aves y a 46 de ellas se les ha considerado directamente asociadas al humedal, 14 son migratorias, 12 de ellas provienen del Hemisferio Norte y 2 del extremo sur de Sud-América. En esta época la especie más abundante es Falco sparverius, otras especies abundantes son Anas sibirica y Pelecanus thagus, se considera importante el número de Cygnus melanocoryphus y se ha observado a Ardea coccyz, especie considerada como rara.

Las aves migratorias más abundantes pertenecen a la especie Zonotrichia querula que nidifican en el extremo sur del Hemisferio Sur y que migran durante el invierno hacia la zona central de Chile; respecto a Charadrius falklandicus no existe certeza sobre la proveniencia de estos individuos. De las especies que migran desde el Hemisferio Norte resalta la presencia durante esta época del año, aunque en bajo número de Callidris canutus y de Limosa haemastica que usualmente regresa por la costa atlántica (Hayman, P. et al). Cabe destacarse la coexistencia durante este período de aves migratorias provenientes de los extremos de ambos hemisferios.

Los resultados obtenidos sugieren que durante esta época este humedal sirve como sitio de descanso y alimentación para las aves que regresan hacia el Hemisferio Norte desde lugares más australes y de aquellas especies que nidificando en el extremo sur, se desplazan usualmente hacia la zona central de Chile; se propone este lugar como sitio de estudio de chorlos y playeros, que junto con la playa de Las Rocas de Santo Domingo (Salaberry, M. com.pers.) conforman un interesante sistema para ello.

El proyecto ha sido apoyado por la Corporación Nacional Forestal.

ESTUDIOS SOBRE LA TRANSFORMACION ENZIMATICA Y AUTOXIDATIVA DE L-DOPA A EUMELANINA (Studies on the enzymatic and autoxidative transformation of L-DOPA into eumelans). Villablanca, M., \*Slawinska, D., \*Slawinski, J. and \*\*Inding, L. G. Department of Biological Sciences, Casilla 747, University of Talca, Talca, Chile, \*Institute of Physics, Pedagogical University 30-084 Krakow UL. Podchorazych 2, Poland, \*\*Department of Biochemistry, Institute of Chemistry, University of São Paulo, C.P. 20780, São Paulo, Brasil. (Patrocinio: L. Meza Basso).

The catechol oxidase catalyzed and autoxidative transformation of L-DOPA to melanin-like polymers have been studied by oxygen consumption, chemiluminescence, energy transfer, fluorescence and absorption spectroscopy.

Formation of DOPA-chrome and DOPA-lutin have been found in the enzymatic and autoxidative reaction. Autoxidative reaction is chemiluminescent, the emission occurring in the 400-600 nm range. The excitation energy is not transferred to sensitizers. Carbonate and active species of oxygen are shown to participate in the chemiexcitation reaction.

This work was supported by grants from FINEP (Rio de Janeiro), CNPq (Brasilia), FAPESP (São Paulo) and Volkswagen Foundation (Hannover).

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE VIH DE INDIVIDUOS CUYOS SUEROS PRESENTAN REACTIVIDAD CON VIH-1 Y VIH-2. (Isolation and characterization of HIV from patients with antibodies against HIV-1 and HIV-2 glycoproteins). Volkovic, A. Centro de estudios Científicos de Santiago y Unidad de Virología, Fac. de Medicina, U. de Chile. (Patrocinio: R. Espino).

Se han descrito en detalle dos virus de la inmunodeficiencia humana, VIH-1 y VIH-2. En algunos individuos se ha logrado detectar anticuerpos contra VIH-1 y VIH-2 en proporciones que varían según el ensayo utilizado. Esta reacción cruzada es principalmente entre las proteínas gag p26 y p25, de VIH-2 y VIH-1 respectivamente.

En nuestro laboratorio, de 25 sueros positivos por ELISA para VIH-1, se encontraron seis casos con reactividad cruzada con VIH-2 por inmunoprecipitación. Si bien la presencia de anticuerpos anti-VIH-2 en estos seis pacientes podría deberse a una diferencia en la respuesta inmune del individuo, no se puede descartar la posibilidad de que la variación sea producto de características diferentes en la cepa infectante.

Por estas razones, se decidió aislar VIH de un individuo que presenta reactividad con VIH-1, así como de uno que presente la doble reactividad, para posteriormente caracterizarlos.

En este trabajo presentamos los resultados del aislamiento de la cepa 6HW de un individuo que presenta reactividad doble, y de la cepa RA de uno con reactividad solo contra VIH-1. Hasta el momento, y luego de tres pasajes de estos virus por linfocitos en cultivo, hemos logrado aumentar la producción de virus, la que al parecer es también más rápida. Por otra parte, se está intentando traspasar estas cepas a dos líneas de linfocitos CD4 humanos como son CEM y H9, para trabajar con mayor facilidad con ellas.

OBTENCION DE UN ANTICUERPO MONOCLONAL ANTIPEROXIDASA Y SU APLICACION EN INMUNODETECCION. (Obtention of antiperoxidase monoclonal antibody and its application in immunodetection). Villegas, J. y Eller, G. Instituto de Medicina Experimental, Universidad Austral de Chile. \* Universidad de La Frontera. (Patrocinio Dr. H. Folch).

Con el fin de preparar complejo peroxidasa-antiperoxidasa de rata se produjo un anticuerpo monoclonal anti peroxidasa, para lo cual células esplénicas de rata hiperinmunizadas con peroxidasa se fusionaron con la línea parental 8 azaguanina resistente NSO/2 siguiendo el método de Kohler y Milstein. Para la detección de anticuerpos antiperoxidasa en los sobrenadantes se diseñó una técnica en membranas de nitrocelulosa. De los clones positivos obtenidos en la fusión se seleccionó el clon 3C8 por su alta secreción de anticuerpos antiperoxidasa. Este híbrido es estable, manteniéndose por más de un año en cultivo y sus células muestran un alto contenido de inmunoglobulina intracitoplasmática, la que corresponde a la clase IgG.

Los complejos peroxidasa antiperoxidasa se prepararon de acuerdo a la técnica de Mason; son estables en el tiempo conservados a -20°C o a 4°C, demostrándose efectivos como reactivo en inmunodetección.

Financiado por Proyectos DID-UACH S-89-21, FONDECYT 0074/89, TWAS GR 29-CHL-7 y GTZ 78.2503.7-01.300/469.

MECANISMOS DE RESISTENCIA A MÚLTIPLES DROGAS EN CANCER GÁSTRICO: EXPRESION DEL GEN MDR1. (Mechanism of multidrug resistance in gastric carcinoma: MDR1 gene expression). Vollrath, V., Chianale, J. Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: F. Nervi).

Uno de los mecanismos de resistencia a quimioterapia de las células neoplásicas está asociado a un aumento en la expresión del gen MDR1, el cual codifica la glicoproteína P-170 de la membrana plasmática. Esta proteína actúa como una bomba de eflujo, dependiente de energía, disminuyendo la acumulación de citotóxicos estructuralmente disímiles en el citosol. Se ha establecido correlación entre el nivel relativo de expresión del gen, P-170 y el grado de resistencia de las células a diversas drogas. Se estudió la expresión del gen MDR1 en el adenocarcinoma gástrico (AG) y en la mucosa gástrica (MG) de la misma pieza quirúrgica de sujetos no tratados. Se cuantificó el RNAm específico, hibridando en dot blot cuantitativo. RNA total extraído de AG y MG con una sonda del gen MDR1 marcada con <sup>32</sup>P. El tamaño del RNAm, estimado por Northern blot, fue de 4.5Kb. En las muestras analizadas, el nivel relativo de expresión, estimado en unidades densitométricas por 10ug de RNA, fue de 0 a 9 en AG y de 0 a 4 en MG. En el análisis pareado de 8 muestras de AG se observó un aumento en la expresión del gen con respecto al determinado en MG (p<0.05). Los niveles de RNAm en AG no se correlacionaron con el tipo histológico y grado de diferenciación del tumor. Las cantidades relativas de RNAm determinadas en AG fueron menores a la obtenida en tejidos normales con altos niveles de expresión como glándula suprarrenal (10<sup>6</sup>Ud/10ugRNA). Esto sugiere que el incremento del RNAm en AG no es dependiente de una amplificación del gen MDR1. La observación que el gen se expresa en mucosa gástrica indica la posible participación de la P-170 en procesos fisiológicos a nivel de membrana celular. Estos hallazgos sugieren que en algunos AG, el incremento en la expresión del gen MDR1 podría participar en los mecanismos moleculares de resistencia primaria o adquirida observada en estos tumores.

**DIFERENCIAS EN EL COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO EXPERIMENTAL E INDUCCIÓN DE ANTICUERPOS LÍTICOS DE POBLACIONES DE *T. CRUZI* CHILENAS Y EXTRANJERAS CLASIFICADAS POR ZIMODEMAS.**

Wallace, A.° Olivares, M.°° y Sánchez, G.°°  
° Depto. Medicina Experimental, °° Depto. Biología, Facultad de Medicina, U. de Chile.  
(Patrocinio: A. Solari).

El análisis comparativo de poblaciones de *T. cruzi* chilenas y extranjeras pertenecientes a zimodemas  $Z_1$  y  $Z_2$  caracterizadas biológicamente en ratones Balb/c, dió los siguientes resultados: 1) La infectividad con los grupos  $Z_1$  y  $Z_2$  fué similar, sin embargo los ratones inoculados con poblaciones  $Z_2$  presentaron un período de prepatencia mayor. 2) Las parasitemias observadas en los ratones infectados con poblaciones  $Z_1$  fueron siempre más altas que con las  $Z_2$ . 3) Los parásitos  $Z_1$  chilenos indujeron parasitemias y tasas de mortalidad inferiores a los  $Z_1$  extranjeros. 4) Se observaron parasitemias y tasas de mortalidad más altas en ratones machos que en hembras. Se estudió la capacidad inductora de anticuerpos líticos de las poblaciones caracterizadas. Se utilizó como célula blanco, en el ensayo de lisis mediada por complemento, tanto tripomastigotes sanguíneos como formas metacíclicas de cultivo. Todos los sueros mostraron actividad lítica contra las formas sanguíneas y de cultivo con al menos dos del total de poblaciones analizadas. La positividad de la reacción dependió en gran medida de la población de *T. cruzi* empleada como célula blanco.

Este trabajo recibió apoyo financiero de: UNDP/World Bank/WHO y FONDECYT.

**DEMOGRAFIA DE *ERODIUM CICUTARIUM* EN EL DESIERTO CENTRAL DE BAJA CALIFORNIA, MEXICO.** (Demography of *Erodium cicutarium* in the central desert of Baja California Mexico). Walkowiak, A.M. Depto. de Ciencias Ecológicas. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.  
(Patrocinio: J.A. Simonetti).

El objetivo de este trabajo es caracterizar el comportamiento demográfico en tres poblaciones de *E. cicutarium* sometidas a diferentes grados de perturbación humana y a la acción de herbívoros nativos.

Las poblaciones muestran una fuerte distribución en parches, ubicados entre los arbustos. La población más abundante se encuentra en el área con mayor perturbación. La acción de los herbívoros no representa un factor significativo en la abundancia de estas poblaciones. Existen diferencias en la duración de los ciclos de vida de acuerdo al sustrato en que se encuentran (arenoso vs. arcilloso). Las poblaciones muestran curvas de sobrevivencia Tipo Deevey I; la tasa de sobrevivencia es máxima en la etapa de plántula y disminuye fuertemente entre la 6a. y 7a. semana después de la germinación. Este comportamiento se asocia al contenido hídrico del suelo.

Los resultados se discuten en términos de disponibilidad espacio-temporal de recursos hídricos, estrategias de historias de vida vs. gradientes de alteración.

Trabajo financiado por CONICYT (México).  
Proyecto PCECCNA/041722

**CONSERVACION Y CAMBIO CROMOSOMICO EN LA EVOLUCION DE ROEDORES CRICETIDOS FILOTINOS.** (Chromosomal conservatism and change in the evolution of phyllotine cricetid rodents). Walker, L.L., Spotorno, A. y Silva, J. Depto. Biología Celular y Genética, Fac. de Medicina, U. de Chile.

La especiación de los roedores cricétidos habría estado acompañada de extensiva diferenciación cromosómica, con reducción del número diploide y aumento de la metacentría de los cariotipos ancestrales. Para investigar esta hipótesis, se compararon los cariotipos (2n-NF) bandeados G de 11 especies pertenecientes a 6 géneros filotinos: *Andinomys edax* (56-58); *Eligmodontia typus* (50-50); *Gracomya griseoflavus* (36,37-46); *Calomys* sp (44-72); *Auliscomys micropus* (34-36,37), *sublimis* (28-32), *boliviensis* (22-32); *Phyllotis darwini* (38-76), *magister* (38-75), *xanthopygus* (38-76) y *oogoodi* (40-76).

Los resultados indican que: 1) números variables de cromosomas telocéntricos de *A.edax* fueron idénticos a telocéntricos o a brazos de metacéntricos de las otras especies, 2) los cromosomas metacéntricos de éstas correspondieron a iguales o distintas combinaciones de telocéntricos de *A. edax*, 3) dos cromosomas de *A. edax* se encontraron como tales o como brazos en todos los géneros; los cromosomas X fueron idénticos, parcialmente distintos o distintos. Estos resultados y el análisis de dendrogramas basados en el número de cromosomas y brazos cromosómicos compartidos, permitieron cuantificar la variación cromosómica que acompañó a la especiación en este grupo e indicaron que un cariotipo similar al de *A.edax* estuvo en la base de su radiación. Fusiones céntricas independientes y conservación de distintos cromosomas telocéntricos ancestrales habrían sido los principales mecanismos que originaron los cariotipos de las distintas líneas filéticas.

DTI 2689/8823, U. DE CHILE y FONDECYT 88-1013.

**PROCESOS OXIDATIVOS EN ORGANOS DE RATAS SOMETIDAS A SHOCK POR TORNQUETE.** (Oxidative processes in rat organs subjected to tourniquet shock). Ward, P.H., Günther, B. y Viviani, E. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción, Chile.

La aplicación de torniquetes durante 5 hrs en las extremidades posteriores de ratas hembras, nos ha permitido demostrar que la letalidad por shock, que sigue a la reperusión sanguínea, se asocia con la duración de la isquemia y que a nivel de los músculos afectados se evidencian alteraciones bioquímicas que pueden ser revertidas o prevenidas mediante la administración, previa al torniquete, de alopurinol (Alo, 40 mg/Kg).

En nuestra hipótesis de trabajo planteamos que los radicales libres derivados del oxígeno participan en la patogénesis del shock por torniquete; por lo cual hemos iniciado el estudio del estado redox, a través de la determinación de los niveles de glutatión reducido (GSH), en muestras de hígado, riñón, e intestino obtenidos a diferentes intervalos de tiempo. En algunas muestras se determinó, además, el grado de peroxidación lipídica mediante la determinación de dienos conjugados.

Los resultados muestran una disminución del GSH en el hígado durante el período de torniquete, acentuándose a las dos hrs. post-reperusión de las extremidades. En el intestino no se observaron cambios, y en el riñón este efecto sólo se observó en el período post-torniquete. Además, a nivel hepático se constató liperoxidación en el período post-torniquete.

Si bien estos efectos se presentaron también en animales pre-tratados con SOD. Nuestros resultados previos con Alo y la presencia de peroxidación lipídica no permiten descartar la participación de estos radicales en este tipo de shock.

PROYECTO FONDECYT 89-695.

**DETECCION INMUNOBIOQUIMICA DEL RECEPTOR DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMICO (EGF) EN CELULAS DE LA GRANULOSA DE RATA. (Immuno biochemical detection of the EGF receptor in rat granulosa cells). Werner E., Orphanopoulos D. y Holiuque L. Fac. de Medicina y Fac. de Ciencias Biológicas P.U.C.**

El EGF podría jugar algún rol en la diferenciación de las células foliculares. En efecto, se ha demostrado que las células de la teca producen factor de crecimiento transformante alfa (TGF-alfa), y que las células de la granulosa poseen sitios de unión a EGF, posiblemente regulados por acción de gonadotrofinas.

Con el fin de estudiar en detalle el mecanismo de regulación de la expresión del receptor de EGF en estas células es necesario contar con otras formas de detección adicionales a la medición de la unión del ligando. En el presente trabajo se utilizó un anticuerpo preparado en nuestro laboratorio para implementar procedimientos que permitan evaluar niveles de síntesis y masa del receptor en células de la granulosa, luego de tratamientos al animal o a las células *in vitro*. Mediante incorporación de <sup>35</sup>S-metionina (30min), inmunoprecipitación y fluorografía de geles PAGE-SDS fue posible detectar la síntesis del receptor y observar cambios bajo distintas condiciones experimentales *in vivo* e *in vitro* (FSH, forskolin, cAMP, suero, fibronectina). Además, la masa del receptor presente en 2x10<sup>5</sup> células es suficiente para ser detectada mediante inmunoblot. Los enfoques experimentales utilizados permitirán analizar los mecanismos involucrados en la regulación de la expresión del receptor en este sistema. (Financiado por FONDECYT #0249-88).

**ALTERACIONES NEUROENDOCRINAS EN EQUINOS FINA SANGRE DE CARRERA SOMETIDOS A TRANSPORTE ANTES DE COMPETIR (Neuroendocrine alterations produced by transport before competition in Thoroughbred race horses) White A., Reyes A., Godoy A., y Martínez R. Dpto. Fisiología y Biofísica, Fac. Medicina; y, Dpto. Cs. Biológicas Animales y Dpto. Cs. Clínicas Pecuarias, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.**

Los caballos de carrera frecuentemente deben ser transportados desde el lugar donde viven y se realiza su preparación hasta el hipódromo donde les corresponde competir. Este transporte se efectúa en las horas previas a la carrera, en camiones poco confortables, con una duración que fluctúa entre 30 minutos, cuando se realiza dentro de la misma ciudad, y 4 horas, si los ejemplares son traídos desde ciudades ubicadas a aproximadamente 100 km de distancia. Las contingencias del transporte y la llegada a recintos extraños podrían ser factores estresantes para los animales que comprometan las posibilidades de éxito en la competencia.

Con el fin de evaluar las alteraciones experimentadas por los caballos transportados, se determinó hematócrito, glicemia, cortisol, osmolaridad, proteínas y electrolitos plasmáticos en condiciones basales, inmediatamente después de transportados y una vez finalizada la carrera, comparándolos con animales no sometidos a transporte.

Inmediatamente después de transportados se observó aumentos significativos en glicemia (de 84,7 ± 5,2 a 101,4 ± 4,2 mg/dl, p < 0,005) y cortisol plasmático (de 2,3 ± 0,3 a 5,1 ± 0,6 µg/dl, p < 0,001). No se encontró diferencias en estos resultados atribuibles al sexo, temperamento ni tiempo de transporte. Una vez finalizada la carrera, tanto en los animales transportados como en los no transportados, se observó un incremento significativo con respecto a los valores basales en glicemia, hematócrito, cortisol, osmolaridad, sodio y proteínas totales plasmáticas. Los valores de glicemia y cortisol plasmático post-carrera fueron a su vez significativamente mayores que los encontrados inmediatamente después del transporte.

Los resultados obtenidos confirman que el transporte constituye una situación de estrés para los animales, lo que podría influir negativamente en el rendimiento físico de los ejemplares.

Financiado por: Proyecto 153/88 de FONDECYT.

**EVOLUCION DE LA ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA HEPATICA EN EL PERIODO POSTCOLESTASICO. (Time course of hepatic alkaline phosphatase in the postcholestatic period). Wielandt, A.M., Polanco, O., Pizarro, M. y Accatino, L. Depto. de Gastroenterología, Fac. de Medicina, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: Dr. V. Valdivieso).**

En colestasia, la actividad de la fosfatasa alcalina (FA) aumenta en el hígado, plasma y bilis. Puesto que se desconoce la evolución de este marcador clínico en el período postcolestásico, determinamos en ratas sometidas a obstrucción biliar completa (OBC) por 24 y 48 h, su actividad en plasma, bilis y membranas canaliculares purificadas, en diferentes tiempos, luego de desobstruir el colédoco. Controles: ratas con operación simulada. En ambos grupos colestásicos: a) el flujo biliar aumentó 3 veces respecto al control (colestasis postcolestásica), normalizándose a la hora; b) la excreción de sales biliares (SB) fue 3 a 5 veces superior al valor control, volviendo al nivel basal a los 45 min.; c) en el plasma, la actividad de la FA fue 2 a 3 veces mayor que los valores controles, hasta los 60 min., llegando a normalizarse a las 5 h; d) en cambio, la actividad de la enzima en la bilis, en las ratas con OBC de 24 y 48 h, se mantuvo en el triple o aumentó progresivamente hasta 8 veces el valor control al cabo de 5 h, respectivamente; e) la evolución temporal de la velocidad de secreción de FA en bilis fue semejante a la de la excreción de SB; f) en las membranas canaliculares la actividad de la FA inicialmente fue el triple de la basal, bajando agudamente en la primera hora, lo que coincidió con el perfil de excreción biliar de FA, en el mismo período. Los diferentes perfiles de evolución de la actividad de FA en el plasma, respecto a la bilis e hígado, sugieren una compartimentalización de la enzima y un acceso limitado de la FA plasmática al compartimiento biliar. La disminución de la actividad FA en las membranas canaliculares se asocia con el aumento progresivo de ésta en la bilis, lo que sugiere que la FA biliar proviene de la membrana canalicular. La evolución paralela de la excreción de SB y de FA sugiere una relación entre ellas, facilitando la solubilización de la enzima desde esta membrana.

**REORGANIZACION INTERNA DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA (Internal reorganization of the Sleep-Wake Cycle). Wynne, U. y Vivaldi, E.A. Dpto. Fisiología y Biofísica, F. de Medicina, U. de Chile.**

Cada estado del ciclo sueño vigilia se concentra en una determinada fase del día generando una secuencia estereotipada. Una perturbación en el ciclo luz oscuridad (CLO) produce una incongruencia inmediata de tres factores: clave ambiental, fase circadiana e incidencia de cada estado en las horas precedentes. En el largo plazo debe producirse una resincronización con el nuevo CLO.

Ocho ratas con electrodos crónicamente implantados, tras 3 días control en CLO 12:12, fueron sometidas a avances de fase de 6 horas por día corto (ADC) o noche corta (ANC) o a retardos de fase de 6 horas por noche larga (RNL) o día largo (RDL). Un sistema de registro computerizado ininterrumpido asignaba cada bin de 15 segundos a Sueño Quietado Delta (SQD), Sueño Quietado Sigma (SQS), Sueño Activo (SA) o Vigilia (V). En las 6 horas posteriores a la perturbación hay un aumento de SQD en los paradigmas donde hay luz en un horario que correspondía a oscuridad (66% en RDL y 22% en ANC) y de V en los casos inversos (19% en ADC). El SA casi no se ve afectado siguiendo su horario circadiano previo. Con el método de cosinor se determinó la acrofase por estado para cada período de 24 horas. Un ANOVA del desplazamiento de las acrofasas resultó muy significativo (p = 0,0001) para el factor paradigma por una mayor rapidez de desplazamiento de RDL y RNL. ADC y ANC son semejantes en cuanto a SA y V, pero difieren en que SQD es muy rápido en ADC (perdiéndose su relación secuencial con SA) y muy lento en ANC, resultando en una interacción significativa paradigma vs. estado (p = 0,03).

La baja variabilidad intradiaria del SA como su ajuste altamente significativo a una curva sinusoidal durante los días basales refleja un estrecho acoplamiento del SA con su oscilador que resulta ser más insensible a la perturbación misma bajo todos los paradigmas y que es más difícil de desplazar en el sentido del avance que en el de retardo.

Proyecto Fondecyt 1291/88

**RNA POLI A+ EN EL ESPERMIO DE RATA Y RATON.** (Poly A+ RNA in the rat and mouse spera.) Yanez, A., Lehman, O., y Villegas, J. (Patrocinio : Ilona I. Concha).

Mediante técnicas bioquímicas y de microscopía electrónica se ha demostrado que tanto el espermió humano como el de rata contienen RNA (Passot y col. BBRC, 158, 272- 278, 1989). También hemos confirmado la presencia de RNA en el espermió de ratón y en general los perfiles electroforéticos son semejantes entre las especies. Para estudiar la existencia de RNA poli A+ entre estos componentes se procedió a preparar una sonda de oligo U (40 - 60 nucleótidos) marcado con  $^{32}P$ , esta se usó para hibridar RNA total de rata y ratón fijado a nitrocelulosa. La autoradiografía reveló hibridación positiva con RNA total de testículo, con RNA polisomal, con RNA total de espermiós de ambas especies y fue negativa con tRNA de levadura. Se ha calculado que un promedio de alrededor de un 0.5% de RNA total de espermió corresponde a poli A+. Para determinar el tamaño de RNA poli A+, el RNA total de espermiós se separó por electroforesis en geles de agarosa y se transfirió a Hybond N. Las membranas se hibridaron con la sonda  $^{32}P$ -poli U y la autoradiografía reveló RNAs de tamaño de alrededor de 18 S. Este RNA poliA+ se purificó parcialmente con papel poli U (Amersham). El significado de la presencia de RNA poli A+ será discutido. (Financiado por FONDECYT N° 0942-88, S.Volkswagenwerk I/61/457 y DIC-UACH S-85-10).

**HIBRIDIZACION IN SITU: ESTANDARIZACION DE UNA TECNICA NO-ISOTOPICA.** (In situ hybridization: standardization of a non-isotopic technic). Yulis, C. y Lederis, K. Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile y Department of Pharmacology and Therapeutics, Faculty of Medicine, University of Calgary.

Se desarrolló un método de hibridación *in situ* con el objetivo de localizar mRNAs para arginina vasotocina (AVT) y urotensina II (UII). Cortes de tejido nervioso de dos especies de peces (*Catostomus commersoni* y *Carassius auratus*), incluido en parafina, fueron incubados con sondas de oligodeoxinucleótidos sintéticos complementarias a regiones de mRNAs que codifican para precursores de AVT y UII. Las sondas fueron marcadas con deoxinucleótidos biotinilados (Bio-11-dUTP y Bio-16-dUTP), usando una enzima transferasa terminal. Se analizaron los efectos de las siguientes variables sobre la sensibilidad y especificidad del método: 1) mezclas fijadoras (Bouin, Zamboni, Zamboni-0.5% glutaraldehído y paraformaldehído 4%); 2) tiempo de digestión enzimática de los cortes (Proteinasa K); 3) concentración de la sonda; 4) temperatura y tiempo de incubación en la mezcla de hibridación y lavados subsiguientes; y 5) métodos de detección de la sonda biotinilada. Se obtuvieron resultados de hibridación positivos con ambas sondas, en tiempos relativamente cortos de reacción (24 horas en total). Los fijadores más apropiados fueron Bouin y Zamboni. El elevado nivel de resolución, sensibilidad y especificidad obtenidos, asociado a la ventaja de poder efectuar inmunocitoquímica en cortes adyacentes, indican que técnicas no-isotópicas pueden ser empleadas exitosamente en la detección de mRNAs en neuronas neurosecretorias.

Financiado por proyectos S-89-01 D.I. U.A.Ch., FONDECYT 88-0890 y Medical Research Council, Canadá.

**CAMBIOS DE LA PRESION ARTERIAL ASOCIADOS CON NIVELES PLASMATICOS Y RENALES DE PGE<sub>2</sub> DURANTE EL CICLO ESTRAL** (Blood pressure changes associated with plasmatic and renal PGE<sub>2</sub> levels during the estrus cycle). Zamorano, B. Departamento de Fisiología y Biofísica. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se estudió si los cambios espontáneos de secreción de hormonas sexuales producidos durante las fases del ciclo ovárico afectan la presión arterial (PA). Se analizó su relación con modificaciones de la producción vascular y renal de PGE<sub>2</sub> durante el ciclo estral (CE).

Se usaron ratas Sprague-Dawley adultas normotensas (RNT, n=10) e hipertensas experimentales (RHE, n=10). El CE se controló por análisis citológico vaginal diario. La hipertensión se indujo según modelo descrito como Golblat 1 (1 pinza, 1 riñón). La PA se midió cada día en la cola, por método indirecto. La concentración de PGE<sub>2</sub> vascular y renal se determinó por RIA, previa extracción de los ácidos lipídicos y separación cromatográfica de PG.

Los resultados demuestran que la PA disminuye durante la fase de estro del CE de RNT y RHE (p < 0.05). En este mismo período se observa aumento plasmático y renal de PGE<sub>2</sub> (p < 0.001). Este estudio sugiere que durante el CE de la rata se producirían cambios de producción PGE<sub>2</sub> renal y vascular como respuesta compensatoria a modificaciones de la PA.

(Financiado por Proyecto 1131, FONDECYT).

**REPARACION G<sub>2</sub>: EFECTO DE CAFEINA, NICOTINAMIDA E INHIBIDORES DE BIOSINTESIS DE PROTEINAS SOBRE EL DAÑO CROMOSOMICO INDUCIDO POR RAYOS X.** (G<sub>2</sub> repair: Effect of caffeine, niacinamide and protein synthesis inhibitors on X-ray induced chromosome damage). Zamorano-Ponce, E. y López-Saéz, J.

1. Laboratorio Citogenética, U. del Bío-Bío, Campus Chillán, Casilla 447 Chillán - Chile.  
2. C.I.B., Velázquez 144, Madrid 28006 - España.

En el presente trabajo se analizó la reparación G<sub>2</sub> en células proliferantes de ápices radiculares de *Allium cepa*.

Nuestros resultados indican que la exposición de las células meristemáticas a rayos X conlleva a la inducción de parada G<sub>2</sub> y de aberraciones cromosómicas. La cafeína fue capaz de potenciar las aberraciones cromosómicas inducidas por rayos X lo que fue acompañado de una cancelación de la parada G<sub>2</sub>. Este fenómeno es eficientemente anulado por la presencia de emetina, anisomicina y cicloheximida. La nicotinamida, revierte parcialmente la parada G<sub>2</sub> inducida por el clastógeno, disminuye la frecuencia de aberraciones cromosómicas y revierte además la acción potenciadora de aberraciones cromosómicas de la cafeína.

Estos resultados apoyan la hipótesis de la existencia de un mecanismo de reparación G<sub>2</sub> que comprendería dos vías cooperativas cuales son: La parada G<sub>2</sub>, que depende de la presencia de lesiones en el DNA y los mecanismos biosintéticos de reparación de DNA encargados de la eliminación del daño y restauración de la estructura nativa antes del desarrollo de la mitosis.

Trabajo financiado parcialmente por proyecto 89-3114 de la Universidad del Bío-Bío.

REGULACION DEL GEN DE CADENA LIVIANA DE LA MIOSINA CARDIACA DE POLLO POR EL ONCOGEN c-fos. (c-fos (Regulation of the chicken cardiac myosin light chain gene) Zaraga, A.M., Mascareño, E., Martín, H.E. y Siddiqui, H.A.O. Instituto de Bioquímica, Fac. de Ciencias, Universidad Austral, Valdivia. \*Anatomy and Cell Biology Department, SUNY-HSC, BROOKLYN, N.Y., U.S.A.

La diferenciación de las células musculares cardíacas de pollo es un sistema muy ventajoso para el estudio de inducción de genes embrionarios. En etapas tempranas del desarrollo, 24 horas después del inicio de la segmentación del huevo, las células presuntivas cardíacas ya están programadas para diferenciarse a mioblastos cardíacos, aún cuando fenotípicamente son indistinguibles respecto al resto de las células. Hemos aislado y determinado la secuencia del gen de la cadena liviana fosforilable de la miosina, MLC2. Su promotor fue identificado por mapeo con nucleasa S1 y ensayos de expresión transientes en cultivos primarios y establecidos de células cardíacas. Análisis computacional de la región 5'-nocodificante indica la presencia de elementos CAT y TATA y de secuencias conservadas que son reconocidas por proteínas reguladoras de transcripción tales como hsp 70, SP1 y AP-1 entre otras. Estos elementos reguladores forman también parte del promotor de c-fos, el cual es inhibido por retroinhibición. Por tanto, a objeto de determinar si la oncoproteína c-fos ejerce alguna actividad reguladora sobre la expresión del gen para MLC2, hemos hecho transfecciones triples de células cardíacas en cultivo primario con los plasmidios que expresan cloranfenicol acetyl transferasa (CAT) controlada por el promotor de MLC2, la proteína c-fos controlada por su mismo promotor y luciferasa regulada por el promotor de SV40. La sobreproducción de la oncoproteína se determinó por ensayos de Western revelados con anticuerpos monoclonales antic-fos marcados con <sup>125</sup>I. Los resultados indican que el producto de c-fos interactuaría con la región 5' del gen MLC2 inhibiendo su actividad promotora y por tanto bloqueando la producción de CAT. Se discute la probable implicancia de oncogenes en procesos de diferenciación celular.

EXPRESION DEL PROGRAMA GENETICO DEL DESARROLLO Y EVOLUCION DE RODADORES CHILENOS. (Expression of the developmental genetic program and the evolution in Chilean rodent). Zúñiga, C.A. Depto. Acuicultura, Inst. Prof. de Osorno (Patrocinio: A.E. Spotorno).

La ontogenia puede considerarse como una sucesión temporal de fenotipos genéticamente programada. Dicha secuencia puede expresarse regularmente en el desarrollo, o modificarse cuando algún gene clave es modificado por mutación y fijado en una línea filética. En *Abrothrix longipilis*, la simplificación y retraso en la osificación del baculo peneano, junto con la escasa divergencia cromosómica y alélica alcanzada respecto a sus congéneres, sugieren cambios temporales en el programa genético con efectos notables sobre las trayectorias ontogénicas de varios órganos. Este trabajo describe las secuencias de osificación y crecimiento normal y experimental de algunos roedores chilenos y de laboratorio.

En todas las especies, los primeros centros osteogénicos aparecen en la diáfisis de metacarpos y falanges. La osificación se completa a los 5 días postnatal en *A. andinus*, *A. olivaceus*, *A. berlesiochii* y *Mus*. En cambio, en hamster y *longipilis* la osificación alcanza un 80% a los 15 días. La administración de ciproterona a 3-5 días en *longipilis* y *Mus*, modifica el desarrollo del peso corporal y de varios órganos: glándulas accesorias, riñón, tipo y distribución del pelaje. Dichos efectos son permanentes aun con administración de testosterona a los 20 días postnatal.

Los datos sugieren disociación temporal por pedomorfosis en las trayectorias ontogénicas de *longipilis*, las cuales estarían reguladas por una descarga de testosterona neonatal, que controla la diferenciación del baculo peneano y de otros órganos funcionalmente integrados en una red de señales inductivas.

Fondecyt 88-1013 y DTI B2689-8743 U. Chile.

APLICACION DE LAS CRIOTECNICAS AL ESTUDIO DEL NUCLEO CELULAR EN PLANTAS (Cryotechniques application to the study of the plant cell nucleus). Risueño, M.C., Testillano, P.S., Sánchez-Pina, M.A. y Omedilla, A. Centro de Investigaciones Biológicas (C.S.I.C.). Velázquez, 144. 28006 Madrid.

El avance en el estudio del núcleo celular requiere la aplicación de nuevas técnicas que preserven la célula en un estado físico-químico más cercano al fisiológico en relación a las técnicas convencionales de preparación de muestras para microscopía electrónica. En este campo las criotécnicas constituyen un conjunto de métodos en los que el material biológico es fijado y procesado a bajas temperaturas.

Los criométodos evitan la desnaturalización de las macromoléculas reactivas que puede ocurrir durante la polimerización de resinas a altas temperaturas, asimismo reducen la movilidad de elementos entre los compartimentos celulares y permiten una buena preservación ultraestructural, por tanto son muy adecuados para estudios inmunocitoquímicos, autorradiográficos, microanalíticos y ultraestructurales.

Tras una criofijación rápida del material se puede realizar una criosustitución e inclusión en resinas tipo Lowicryl para estudios microanalíticos, inmunocitoquímicos y autorradiográficos; o bien obtener criosecciones que por la ausencia de medios de inclusión presentan una gran reactividad química resultando muy útiles además para estudios de hibridación *in situ*.

El empleo de estas técnicas nos ha permitido la localización en meristemos de raíz y granos de polen en desarrollo de: elementos en diferentes compartimentos nucleares por microanálisis de rayos X, así como proteínas nucleares mediante inmunofluorescencia e inmunomarcado con oro coloidal.

El desarrollo de las criotécnicas permite un nuevo abordaje en el estudio de la relación estructura-función-composición del núcleo celular.

ADMINISTRACION DE ESTRADIOL EVITA EL "ESCAPE" DE ALDOSTERONA. Estrogen administration and the avoidance of aldosterone "escape". Valenzuela, G.J., Hewitt C.W. y Longo L.D. Division of Perinatal Biology, Loma Linda University.

Administración de estradiol produce retención de líquido y aumento de aldosterona. La administración crónica de aldosterona causa un fenómeno de "escape", caracterizado por retención transitoria de líquido (3 días), e hipertensión arterial. En el embarazo, las concentraciones de aldosterona son altas sin que se produzca "escape". Investigamos si estradiol evita el "escape" de aldosterona. Administramos aldosterona (14 ug/kg/d) o aldosterona + estradiol (30 ug/kg/d) por medio de bombas osmóticas, a conejas cateterizadas en forma crónica (n=11). Medimos volumen sanguíneo, presiones arterial y venosa, frecuencia cardíaca, y concentración de aldosterona y estradiol, durante tiempo control y a los 3 días de tratamiento. Encontramos, en el grupo aldosterona, 18% de aumento de presión arterial, sin cambios en volumen sanguíneo. En contraste, el grupo aldosterona + estradiol, experimentó una disminución de un 16% de la presión arterial, aumento de la frecuencia cardíaca, y un 26% aumento del volumen sanguíneo. La concentración de aldosterona en plasma fue semejante para los dos grupos de animales.

Concluimos que la administración de estradiol evitó el "escape" de aldosterona. Estos resultados son compatibles con experimentos en que se evita el "escape" de aldosterona manteniendo la presión de la arteria renal baja (Hall, 1984), por un mecanismo de "auto control" (un globo alrededor de la aorta conectado a un computador para su regulación). Nuestros resultados muestran una manera fisiológica de evitar "escape", y pueden ser importantes para entender la retención de líquido durante el embarazo.

## INDICE DE AUTORES / AUTHORS' INDEX

Arch. Biol. Med. Exp.  
Vol. 22, No 3, 1989

- Abarca, E. R225  
 Abarzúa, M. R240  
 Abeijon, C. R198  
 Accatino, L. R317  
 Acevedo, C.G. R225  
 Acevedo, R. R256  
 Acuña H., O. R304  
 Acuña, A. R293  
 Acuña, M. R273  
 Adarmes, H. R261  
 Affranchino, J.L. R194  
 Agosin, E. R225  
 Aguado, L. R207  
 Aguiar-Perecin, M.L.R. de.  
 R285  
 Aguilera, L.E. R225  
 Agurto, M. R307  
 Ahuja, K.K. R208  
 Ahumada, A. R226  
 Alarcón, C. R254  
 Alarcón, J. R228  
 Alarcón, M. R238  
 Alarcón, J. R305  
 Alay, F. R252  
 Alberdi, M. R226  
 Albertini, R.A. R245  
 Albornoz, J. R293  
 Alda, L. R226  
 Aldunate, J. R312  
 Algranati, I.D. R194  
 Allende, J.E. R196, R227  
 Aller, P. R224  
 Alliende, C. R209, R262  
 Almonacid, M.E. R310  
 Alonso, P. R260  
 Altamirano, J. R254  
 Altschuler, D. R217  
 Alvarez, A. R216, R248, R276  
 Alvarez, J. 236  
 Alvarez, O. R242  
 Alvarez, S. R216  
 Alvear, M. R226  
 Alvo, M. R259  
 Amaro, A.M. R238  
 Amigo, L. R205, R227  
 Anthauer, R. R217, R227  
 Andersen, D. R288  
 Andrade, J. R284  
 Andreu, D. R211  
 Andreu, J.M. R211, R263  
 Antonelli, M. R227  
 Antonin, F. R227  
 Aoki, A. R241, R286  
 Apt, W. R273  
 Aranda, M. R228  
 Araya, A. R227  
 Araya, B. R248  
 Araya, N. R250  
 Arce, P. R228  
 Arenas, C.P. R210  
 Arenas, P.A. R302  
 Arevalo, M.A. R211  
 Argandoña, V.H. R283  
 Arias, W. R228  
 Armelin, M.C.S. R210  
 Armesto, J.J. R298, R314  
 Arrate, P. R228  
 Arrau, J. R274  
 Arraztoa, J.A. R289  
 Arredondo, R. R238  
 Arriagada, E. R229  
 Arriaza, C.A. R307  
 Arroyo, M. R272  
 Arteaga, A. R293  
 Assef, M.L.M. R242  
 Astete, C. R241  
 Astorquiza, M.I. R229  
 Atwater, I. R197, R219  
 Austin, C.R. R203  
 Ayala, S. R288  
 Azevedo, N.L. R229  
 Azócar, R. R291  
 Babul, J. R229  
 Bacigalupo, J. R230  
 Badiavas, E. R291  
 Báez, C. R230  
 Barañao, J.L. R201  
 Barbieri, M.A. R230  
 Bardisa, L. R276  
 Barnier, R. R230  
 Barra, V. R251  
 Barrantes, F. R290  
 Barrantes, F.J. R313

- Barrientos, M. R298  
Barriga, C. R293  
Barros, C. R203, R207, R212,  
R239, R280  
Barros, L. R231  
Bastias, J. R231  
Basualto, S. R231  
Be, C. R242  
Beas, F. R275  
Becerra, J. R302  
Becker, M.I. R212  
Becker, M.I. R207, R212, R236  
Bedford, J.M. R204  
Begg, A.H. R218  
Behrens, M.I. R232  
Belmar, J. R232  
Beltrami, M. R232  
Benavente, R. R202  
Benavides, K. R226  
Benchimol, M. R232  
Benveniste, S. R245  
Berge, R.K. R205  
Bergseth, S. R205  
Bernath, V.A. R201  
Berois, N. R233  
Berón, W. R273  
Berríos, M. R203  
Bertini, F. R230, R305  
Bertini, F. R273  
Bianchi, N.O. R203  
Bianchi, R. R233  
Blanchette, R. R225  
Blaquier, J. R208  
Blazquez, M. R207  
Bloj, B. R248  
Bonilla, S. R233  
Boric, M.A. R275  
Boric, M.P. R233  
Borissenko, M. R257  
Borzona, G. R274  
Bowie, W. R199  
Bozinovic, F. R221, R282  
Brandan, E. R200, R200, R309  
Brañes, C. R262  
Brauer, M. R233  
Brauer, M.M. R231  
Bravo, I. R234  
Bravo, J. R248  
Bravo, R. R209  
Bravo, N. R292  
Bremer, J. R205  
Brenner, R.R. R205  
Bretos, M. R234  
Brito, M. R310  
Bronfman, M. R282  
Brouwer, A. R219  
Brown, D. R234  
Bruzzone, M.E. R234  
Buchi, D.F. R242  
Bull, P. R235  
Bull, R. R192, R235  
Bunster, M. R235  
Burgos, M. R212  
Burgos, M.H. R190, R235,  
R255, R265  
Burzio, L.O. R264  
Busson, S. R211  
Bustamante, M. R289  
Bustamante, R. R236  
Bustos, J. R236  
Bustos-Obregón, E. R274  
Cabada, M.O. R248  
Cabada, M.O. R204  
Cabello, J. R252  
Cabello, R. R274  
Cabrera, S. R236  
Cachicas, V. R236  
Calderón, F. R308  
Calderón, I. Mery, V. R237  
Caldumbide, M.I. R237  
Calvo, J.C. R206  
Cambiaso, V. R237  
Cameo, M.S. R208  
Campo, S. R293  
Campos, G. R238  
Campos, G.A. R263  
Campos, M. R238  
Campos, R. R256  
Camposano, S. R237  
Campusano, C. R271  
Canals, M. R238  
Canessa, M. R218  
Cánovas, J.L. R238  
Caorsi, C.E. R251  
Caorsi, I. R314  
Capasso, J. R198  
Capote, C. R239  
Caras, I. R197  
Caravaca, N. R239  
Cardemil, E. R226  
Cardemil, L. R199, R224  
Cárdenas, L. R282  
Carmo, T.M.S. R239  
Carmona, M. R307  
Caro, J. R291

- Carrasco, A. R240  
Carrasco, G. R239  
Carrasco, L. R278  
Carrasco, M.A. R196,  
R218, R240  
Carraway, R. R244  
Carreño, H. R291  
Carrizo, D. R207  
Carrol, P.B. R219  
Carroll, P. R197  
Carron, C.P. R208  
Carú, M. R240  
Carvajal, E. R240  
Carvajal, M.A. R240  
Carvajal, N. R263  
Carvalho, L. R241  
Casanova, G. R233  
Casco, V.H. R241  
Castillo, L. R209  
Castillo, S. R241  
Castro, A. R296  
Castro, F. R241  
Castro, O. R312  
Cavicchia, J.C. R242,  
R279, R284  
Caviedes, R. R218, R242  
Cazzulo, J.J. R194, R195  
Cea, C.G. R256  
Cecchi, X. R242  
Celedón, G. R278  
Cena, R197  
Cepeda-Pizarro, J.G. R243  
Cerisola, H. R250  
Cesar, B. R242  
Chamorro, D. R216  
Charreu, E.H. R206  
Chavante, S. R201  
Chávez, M. R234  
Chávez, R. R310  
Chemes, H. R206, R293  
Chianale, J. R315  
Chiang, L. R276  
Chihuahilaf, R.H. R234  
Chiong, M. R243  
Cid, H. R231  
Cid, P. R307  
Cidadadao, A,J. R189  
Cifuentes, F. R218, R266  
Cifuentes, L. R243  
Cifuentes, V. R240  
Cigorruga, S. R206  
Ciuffardi, I. R278  
Clairmont, C. R198  
Cleveland, D.W. R211  
Coloma S., L.A. R243  
Coloma, L. R293  
Coloma-Torres, L. R312  
Comte, Sh. R244  
Concha, I.I. R310  
Concha, J. R260, R305  
Concha, M. R217, R227, R244  
Connelli. C.C. R307  
Constandil, L. R244  
Contreras, A. R298  
Contreras, D. R290  
Contreras, E. R244  
Contreras, G. R260  
Contreras, M. R244  
Cooper, D. R196  
Corcuera, L.J. R276  
Cordero, M.E. R245  
Correa, F. R265  
Correa, F.R. R311  
Cortés, A. R245  
Corvalán, A. R210, R302  
Costa, M.A.B. R239  
Cotorás, M. R272  
Cotta-Pereira, G. R189  
Couve, E. R245  
Crawford, D. R220  
Crisci, J.V. R220  
Cristi, R. R226  
Crosby, J. R261, R261  
Cross, D. R294  
Croxatto, H.B. R206  
Croxatto, H.R. R245  
Cruz-Coke, R. R189, R273  
Cruz, M. R278  
Cuadrado, A. R238  
Cuasnicu, P.S. R204  
Cubillos, B. R250  
Cuch, D. R251  
Cuevas, L. R246  
Curotto, E. R246  
Cutler, L.S. R263  
D'Acuña, E. R245  
Dabiké, M R246  
Davis, R.A. R206  
Dawidowsky, A. R208  
Daza, M. R246  
De Carvalho, T.U. R269  
De Geyter, M.A. R307  
De Ioannes, A. R239  
De Ioannes, A.E. R207, R207  
De Jourdan, V R226

- De la Cerda, M.S. R306  
 De la Fuente, E. R264  
 De la Sotta, R. R247  
 De la Torre, C. R224,  
     R247, R258  
 De Rosas, J. R255  
 De Souza, W. R195, R212,  
     R229, R232, R241, R247, R269  
 Del Campo, C. R294  
 Del Campo, M. R294  
 Del Caro, L.M. R247  
 Del Pino, E.M. R193  
 Del Pino, J. R261, R261  
 Del Río, E. R236  
 Del Valle, R. R293  
 Del Villar, E. R312  
 Del Villar, M. R275  
 Delgado, R. R247  
 Dell'Orto, P. R248  
 Depix, M.S. R248  
 Depolo, P. R256  
 Devés. R. R269  
 Devoto, L. R248  
 Díaz, F. R267  
 Díaz, H. R209  
 Díaz, M. R249  
 Díaz, N. R209, R249  
 Díaz-Barraza, M. R248  
 Díaz-Bórquez, H. R249  
 Díaz-Fontdevila, M.F. R248  
 Díaz-Veliz, G. R249  
 Dietrich, C.P. R201, R281  
 Dietrich, S.M.C. R200  
 Diez, M. R309  
 Doggenweiler, C. R226  
 Domínguez, P. R250  
 Donghi, S. R250  
 Donoso, P. R192  
 Droguett, M.A. R229  
 Dupré, E. R296  
 Dussaubat, N. R277  
  
 Eaton, L. R250  
 Ebensperger, A. R280  
 Edwards, A.M. R309  
 Egaña, E. R250  
 Eisenman, G. R242  
 Eisner, D.A. R192  
 Eller, G. R315  
 Encinas, M.V. R226  
 Enríquez, R. R276  
 Epple, K. R263  
 Erijman, L. R194  
  
 Escalera, M. R238  
 Escobar, A.L.M. R251  
 Espejo, R. R251  
 Espinoza, G. R265  
 Espinoza, M.A. R306  
 Esponda F., P. R264  
 Esponda, P. R204, R293  
 Estrada, E.F. R251  
 Etchegaray, J.P. R276  
 Eugenin, J. R251  
 Eyzaguirre, J. R241, R294  
  
 Fadic, R. R251  
 Farese, R. R196  
 Fariás, G. R304, R305  
 Faúndez, V.G. R269  
 Faúndez, V.H. R252  
 Faure, M. R273  
 Fernández, E. R228  
 Fernández, G. R268  
 Fernández, J. R214, R214,  
     R226, R252, R252, R290  
 Fernández, M. R252  
 Fernández, V. R253, R253  
 Fernández-Donoso, R. R202, R202  
 Fernández-Llebrez, P. R288  
 Ferrada, D. R253  
 Ferraris, F. R253  
 Ferreira, A. R291  
 Ferreira, A.C. R254  
 Ferreira, J. R254  
 Ferreira, T.M.P.C. R201  
 Ferri, S. R266  
 Ferrón, S. R310  
 Fey, G. R304  
 Figueroa, H. R271  
 Figueroa, P. R254  
 Flawiá, M.M. R217  
 Flores, H. R277, R301  
 Fogal, T. R289  
 Fogal, T. R233  
 Folch, H. R254  
 Forcelledo, M.L. R206  
 Forneris, M. R207  
 Fornés, M. R255  
 Fornes, M.W. R235  
 Forray, M.I. R232  
 Foster, R. R196  
 Fraenkel, D.G. R229  
 Franco, C.R. R242  
 Franjola, R. R256  
 Frasch, A.C.C. R194  
 Frenkel, C. R255

- Fuentealba, B. R255  
 Fuentes, L. R239  
 Fuentes, M.E. R255  
 Fuentes, O. R234, R256  
 Fuenzalida, M. R271  
  
 Gaggero, A. R277  
 Gajardo, J. R285  
 Galanti, N. R194, R224, R297, R308  
 Gallardo, C. R256  
 Gallardo, R. R265  
 Galleguillos, X. R232  
 Garay, F. R286  
 Garcés, G. R244  
 Garcés, H. R304  
 García de la Vega, C. R299  
 Garcia, B.M. R288  
 García, H. R267  
 García, M. R256  
 Garrido O., C. R304  
 Garrido, A. R256  
 Garrido, J. R237  
 Garrido, O. R256  
 Gatica, M. R257  
 Gaule, C. R312  
 Gavilán, J.F. R310  
 Gayan, P. R286  
 Gearhart, J. R211  
 Gelman, M. R273  
 George-Nascimento, C. R257  
 George-Nascimento, M. R221  
 Géraudie, J. R215, R257, R257  
 Germany, A. R244  
 Gil, L. R258  
 Giménez-Abián, J.F. R258, R258  
 Giménez-Abián, M. R224  
 Giménez-Abián, M.I. R247, R258  
 Giménez-Martín, G. R223, R258  
 Ginocchio, R. R259  
 Goday, C. R259  
 Godoy, A. R317  
 Godoy, R. R259  
 Godoy-Herrera, R. R304  
 Goecke, I. R259  
 Goicochea, O. R298  
 Goldberg, E. R208  
 Gomes, S.L. R216  
 Gomez Lahoz, E. R293  
 Gómez, C. R260  
 Gómez, I. R216, R276  
 Gómez, M.L. R194  
 González de la Rosa, A. R198  
 González, A. R269  
 González, B. R300  
 González, C. R260, R260, R260  
 González, C.B. R251  
 González, E. R261, R313  
 González, F. R208, R252, R253  
 González, G. R261  
 González, H. R238  
 González, L.A. R262  
 González, L.F. R262  
 González, M. R309  
 González, M.J. R209, R262  
 González, N.S. R194  
 González, P.J. R190  
 González, R. R263, R280  
 González-Fernández, A. R224  
 González-Figueroa, H. R261, R261, R292  
 González-Plaza, R. R262  
 Gorbunoff, M. R211  
 Gorbunoff, M.J. R263  
 Grau, A. R282  
 Grau, O. R213  
 Gremski, W. R242, R263  
 Grez, A.A. R236  
 Grob, F. R314  
 Gross, P. R265  
 Guadagno, H. R289  
 Guarda, M.I. R284  
 Guerra, F.A. R263  
 Guerra, R. R256  
 Guerra-Muñoz, R. R264  
 Guerrero, C. R231  
 Guerrero, J.L. R313  
 Guigoz, Y. R304  
 Guivernau, M. R264  
 Günther, B. R316  
 Gutiérrez, A. R228  
 Gutiérrez, C. R264, R288  
 Gutiérrez, E. R264  
 Gutiérrez, J.R. R265  
 Gutiérrez, L.S. R235, R242, R265, R289  
 Gutierrez, S. R193  
 Gutierrez, C. R245  
 Guzmán, J.A. R239  
  
 Hajek, E. R265  
 Hall, K. R264, R288  
 Handl, J. R303  
 Hartmann, I. R263  
 Herman, G. R211  
 Hermosilla, I. R265

- Hernández Blazquez, F.J. R266  
 Hernández, A. R267  
 Hernández, A.G. R309  
 Hernández, I. R217  
 Hernández-Cruz, A. R192  
 Herrera, H. R190  
 Herrera, H.A. R266  
 Hewitt, C.W. R319  
 Hidalgo, C. R196  
 Hidalgo, C. R301  
 Hidalgo, J. R197, R218, R266  
 Hidalgo, M. R266  
 Hidalgo, M.E. R228  
 Hidalgo, P. R267, R274  
 Hinrichsen, V. R267  
 Hinrichsen, J.P. R216  
 Hirschberg, C.B. R198  
 Hoecker, G. R291  
 Hoffman, E.P. R218  
 Hoffman, J. R196  
 Hoffman, P.N. R211  
 Holmgren, L. R286  
 Holuigue, L. R317  
 Holy, J. R204  
 Horton, D.S.P.Q. R277  
 Hourdry, J. R215  
 Howell, K.E. R206  
 Huaquín, K. R267  
 Huidobro-Toro, J.P. R244  
 Humaña, A.M. R295  
 Hunter, T. R235  
  
 Illanes, J. R271  
 Imschenetzky, M. R193, R289  
 Inding, L.G. R314  
 Inestrosa, N.C. R214, R262  
 Iñiguez, G. R275  
 Inostroza, H. R267  
 Inostroza, J. R217, R227  
 Inostroza, N.C. R287  
 Iriarte, J.L. R221  
 Iruela-Arispe, M.L. R189  
 Ishiyama, V. R287, R312  
 Ishizuka, T. R196  
 Iturri, S.J. R232  
 Izquierdo, L. R193, R213, R288, R303  
  
 Jabalquinto, A.M. R226  
 Jacob. G. R268  
  
 Jaimovich, E. R196, R218, R240  
 Jaksic, F. R222  
 Jareño, M.A. R268  
 Jedlicki, A. R307  
 Jedlicki, E. R283  
 Jenkins, W.M. R289  
 Jerez, C.A. R216, R238, R308  
 Jeronimo, S.M.B. R201  
 Jofré, C. R262  
 Jofré, J.C. R265  
 Johnson, E.C. R230  
 Johnston, M. R268  
 Johow, V. R282  
 Jordán, M. R199, R228  
 Jordana, X. R248  
 Jorquera, H. R284  
 Jorquera, J. R268  
 Joshi, H.C. R211  
 Juica, F. R275  
 Juri, M.A. Aguillón, J.C. R291  
  
 Kalin, M.T. R272, R298  
 Kattenbach, W.M. R269  
 Kawada, M.E. R268  
 Kelly, R. R198  
 Kessi, E. R263  
 Kettlun, A.M. R311  
 Kiss, J. R305  
 Kitterman, J.A. R263  
 Klaassen, R. R274  
 Koenig, C. R275  
 Kohen, P. R248  
 Koppmann, A. R242  
 Kornblihtt, A.R. R201  
 Kovary, K. R209  
 Kramer, V. R273  
 Krauskopf, M. R217, R298  
 Krauss, R.Y. R269  
 Krupka, R.M. R269  
 Kunkel, L.M. R218  
 Kuschel, M. R290  
 Kuznar, J. R269  
  
 Labarca, M. R285  
 Labarca, P. R247  
 Labra, A. R270  
 Lafuente, N. R306  
 Lagos, R. R260  
 Lakoski, K.A. R208  
 Landis, W.J. R257  
 Lapierre, C. R225  
 Lara, G. R270  
 Lara, H.E. R270  
 Larrain, C. R251

- Lathrop, M.E. R277  
 Latorre, R. R247, R285  
 Laurido, C. R270  
 Lavanderos, S. R271  
 Lazo, B. R271  
 Lederis, K. R318  
 Lee, S.H. R208  
 Lehman, O. R318  
 Leighton, F. R205, R293  
 Leiva, J. R271, R272  
 Leiva, M.S. R302  
 Lemus, D. R271  
 Lemus, R. R271  
 León, G. R217, R276  
 León, M. R206  
 León, P.M. R272  
 Letelier, M.E. R272  
 Lewin, J. R311  
 Leyton, C. R224, R272  
 Leyton, L. R208  
 Lian, J.B. R209  
 Liberona, J.L. R218, R266  
 Ligueros, M. R273  
 Lira, P. R216, R272  
 Lisanti, M. R197  
 Lissi, E.A. R273  
 Llanos, A.J. R286  
 Llerena, G. R261, R261, R292  
 Llop, E. R273  
 Lobo, M.V. R233  
 Lobos, S.R. R308  
 Lolas, F. R237  
 Longo, L.D. R319  
 López S., R. R304  
 López Solis, R.O. R249  
 López, J.R. R218  
 López, L. R273  
 López, M. R226  
 López, M.V. R314  
 López-Saéz, J. R318  
 López-Sáez, J.F. R247  
 López-Solis, R.O. R209, R209  
 Lorca, M. R272  
 Louis, J.A. R237  
 Lovengreen, Ch. R274  
 Low, R. R291  
 Loyola, G. R274  
 Lucena, S.B. R189  
 Luna, L. R274  
  
 Maccioni, R.B. R210, R214,  
 R294  
  
 Macdonald-Bravo, H. R209  
 Macina, R.A. R194  
 Madariaga, L. R246  
 Maldonado, C. R241, R284  
 Maldonado, M. R274  
 Mancilla, M. R275  
 Manni, J.F. R293  
 Manzano, M. R275  
 Maragaño, M. R275  
 Marengo, J.J. R235  
 Marinovic, I. R266  
 Marquet, P.A. R221  
 Martín, M.E. R319  
 Martín, N. R276  
 Martinetto, H. R217  
 Martínez, A. R220  
 Martínez, D. R291  
 Martínez, G. R275  
 Martínez, J. R252  
 Martínez, M. R216, R276  
 Martínez, M.A. R276  
 Martínez, R. R317  
 Marusic, E.T. R259  
 Marzolo, M.P. R205  
 Mascareño, E. R319  
 Massardo, F. R276  
 Maturana, F. R279  
 Maturana, P. R277  
 Mauduit, P. R211  
 Mayer, S.F. R256  
 Mayer-da-Silva, A. R189  
 Mayor, R. R193  
 Mazzella, M.C. R299  
 McCredie, J. R215  
 Mechali, M. R215  
 Medel, R.G. R221  
 Medina, C. R219  
 Medina, J.L. R295  
 Medina, V. R293  
 Medina-Selby, M.A. R257  
 Medrano, F.J. R263  
 Mena, M.A. R307  
 Mendoza, R. R277  
 Mergudich, D. R224, R224,  
 R272  
 Mery, C. R247  
 Messen, L. R237  
 Mettifogo, L. R275  
 Metz, C. R277, R301  
 Mezzano, D. R274  
 Michea, L. R259  
 Michelacci, Y.M. R277  
 Milla, M. R198

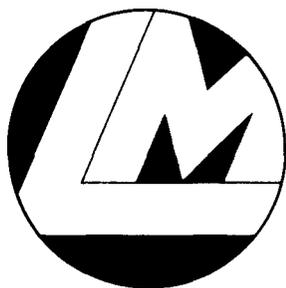
- Minguell, J.J. R201, R296  
 Miquel, A. R293  
 Miranda, D. R277  
 Moll, V. R298  
 Monasterio, O. R210, R285,  
 R306  
 Moncada, C. R292  
 Moncada, E. R278  
 Monichi, E. R228  
 Montalar, Y. R278  
 Montecino, M. R278  
 Montecinos, H. R282  
 Montecinos, M. R193  
 Montecinos, V. R236  
 Monteiro, M.J. R211  
 Montenegro, G. R199, R259  
 Montenegro, M.A. R286  
 Montesino, H. R278  
 Monteverde, P. R312  
 Montoya, G. R253  
 Moore, R. R191, R199  
 Mora, G.C. R230  
 Mora, S. R249  
 Mora, W.U. R279  
 Moraes, C.T. R201  
 Moraga, A. R257  
 Morales, A. R279  
 Morales, B. R279  
 Morales, B.A. R279  
 Morales, M.N. R284  
 Morales, P. R280  
 Morales, Y. R285  
 Morán, F. R206  
 Morello, A. R272  
 Moreno, C. R256  
 Moreno, F. R283  
 Moreno, R.D. R280  
 Morgado, F. R280  
 Morgan, C. R284  
 Morizon, G. R280  
 Mosnaim, A.D. R222, R222  
 Moya, A. R241  
 Muller, I. R237  
 Munizaga, A. R305  
 Muñoz, A. R291  
 Muñoz, B. R275  
 Muñoz, G. R250  
 Muñoz, M. R281, R308  
 Muñoz, Y. R259  
 Muro, A. R201  
 Muro, J. R281  
 Murúa, R. R262  
 Muschietti, J. R217  
 Muson, K. R264  
 Nader, H.B. R201, R281  
 Nagle, C. R293  
 Naranjo, D.O. R281  
 Navarrete, S.A. R221  
 Navarrette, M.H. R238  
 Nazer, J. R243  
 Necochea, C. R282  
 Neira, S. R273  
 Nervi, F. R205, R227  
 Neumann, V. R295  
 Nicola Siri, L.C. R251  
 Niemeyer, H.M. R246  
 Nieto, J.M. R211  
 Norris, B. R260  
 Novoa, F.F. R282  
 Nualart, F. R190, R282  
 Núñez, H. R226  
 Nuñez, L. R282, R283  
 Nuñez, M.T. R297  
 O'Neill, S.C. R192  
 O'Reilly, S. R246  
 Oberhauser, E. R307  
 Ocampo, A. R283  
 Ocaranza, M.P. R271  
 Oehrens, M.A. R283  
 Ohanian, C. R283  
 Ojeda, F. R284  
 Ojeda, S.R. R270  
 Olate, J. R196, R284  
 Olea, N. R252  
 Olivares, A. R268  
 Olivares, M. R316  
 Olivares, R. R289  
 Oliveira, E.B. R239  
 Oliveira, F.W. R201  
 Oliveros, H. R295  
 Olmedilla, A. R319  
 Olmos, A. R285  
 Oñate, A. R280  
 Ordenes, G.E. R210, R302  
 Orellana, A. R284  
 Orellana, M. R310  
 Orellana, M.N. R306  
 Orellana, O. R307  
 Orihuela, P. R287, R312  
 Orphanopoulos, D. R317  
 Orszag, A. R289  
 Ortiz, H.E. R284  
 Ortiz, M. R285  
 Osorio, A. R228

- Oyarzún, M.J. R277
- Pacheco, A. R271
- Paez, A. R285
- Pagliarini, M.S. R285
- Palacián, E. R190
- Palacios, S. R285
- Palestini, M. R255
- Palma-Rojas, C. R285
- Palomino, H. R286
- Palomino, H.M. R286
- Parada, E. R227
- Parada, L. R243
- Parada, S. R232
- Pardo, J. R300
- Paredes, D. R260
- Parodi, A.J. R195
- Parra, C. R233
- Parra, O. R231
- Parra, S. R260
- Parraguez, V.H. R286
- Pasolli, H.A. R286
- Passig, C. R289
- Paz de la Vega, Y. R286
- Peirano, I. R216
- Pella, R. R287, R312
- Pellegrino de Iraldi, A. R189
- Peluffo, E, Scorza, M.C. R231
- Peña y Lillo, S. R209, R262
- Peña, A. R213, R232
- Peña, W. R228
- Peñaloza, R. R297
- Penna, A.M. R239
- Penna, M. R287
- Pepper, I. R307
- Pereda, J. R287
- Peredo, S. R227
- Perelman, A. R287
- Pérez, C. R239
- Pérez, F.J. R246
- Pérez, G. R264, R288
- Pérez, H. R299
- Pérez, J. R288
- Pérez, L.M. R296
- Pérez-Figares, J.M. R288
- Peruzzo, B. R288
- Peruzzo, G. R226
- Pescio, S. R273
- Pessot, C. R310
- Petit, D. R289
- Pey, R. R288
- Piddo, C. R288
- Piderit, A. R291
- Pieber, M. R311
- Piezzi, R. R233
- Piezzi, R.S. R239, R289
- Pimenta, P.F.P. R269
- Pimpinelli, S. R259
- Pincheira, J. R297
- Pino, A.M. R289
- Pino, F. R289
- Pino, J. R285
- Pinto da Silva, P. R269
- Pinto, A. R250
- Pinto-Hamuy, T. R289
- Pizarro, J. R290
- Pizarro, J.M. R290
- Pizarro, M. R317
- Pizzi, T. R247
- Polanco, O. R317
- Pollevick, G. R194
- Prado Figueroa, M. R290, R313
- Prieto, J.C. R273
- Puchi, M. R193, R278
- Puente, J. R222, R223, R277
- Pulgar, T. R294
- Purcell, P. R227
- Quevedo, I. R239
- Quevedo, L. R239, R305
- Quijada, D. R277
- Quilhot, W. R228
- Quiñones, V. R226
- Quintilhan, M.C.T. R263
- Rameh, L.E. R210
- Ramírez, C. R290
- Ramírez, M.T. R250
- Ramírez, S. R291
- Ramos, A. R291
- Ramos, H. R256
- Ramos, R. R291
- Rastrilla, A.M. R207
- Rau, J. R291
- Redins, C.A. R239
- Reinicke, K. R278
- Repetto, G. R292
- Repetto, Y. R292
- Retuerto, F. R292
- Rey, R. R206, R293
- Reyes, A. R228, R292, R317
- Reyes, E. R293
- Reyes, J.G. R228
- Reyes, R. R293
- Reyez, A. R267
- Riffo, M. R293

- Rigotti, A. R205  
 Ríos, D. R294  
 Ríos, S. R294  
 Riquelme, R. R313  
 Risopatrón, J. R294  
 Risueño, M.C. R319  
 Rivas-Berrios, A. R294  
 Riveros, G.G. R295  
 Riveros, M. R295  
 Roa, A. R295  
 Roa, J. R295  
 Robbins, P.W. R198  
 Roblero, J.S. R233  
 Rocha, G.B. R239  
 Roco, A. R296  
 Roco, M. R296  
 Rodrigruez, S. R296  
 Rodríguez, E. R272  
 Rodríguez, E.M. R190,  
     R288, R296  
 Rodríguez, J.P. R296  
 Rodriguez, M. R254, R297  
 Rodriguez, S. R190  
 Rodríguez-Boulan, E. R197  
 Rojas C., M. R297  
 Rojas, C. R195  
 Rojas, E. R197, R277  
 Rojas, F. R207  
 Rojas, M.C. R297  
 Rojas, M.V. R297  
 Rojas, S. R234  
 Roldán, C. R313  
 Román, R. R276  
 Romero, A. R226  
 Romero, F. R217, R298  
 Romero, M. R298  
 Roncagliolo, M. R283  
 Ronco, A.M. R298  
 Rosenblut, G. R307  
 Rosenmann, M. R282  
 Rossat, C. R278  
 Rossignol, B. R211  
 Rothhammer, F. R273  
 Rozzi, R. R298  
 Rudolph, I. R278  
 Rufas, J.S. R258, R299  
 Ruiz, G. R243, R299, R299  
 Ruiz, S. R299  
 Ryseck, R.P. R209  
  
 Saavedra, A. R273  
 Saavedra, C. R273  
 Saavedra, M.A. R300  
  
 Sachs, G. R264, R288  
 Sáez, C. R255, R300  
 Sáiz, F. R302  
 Salas, K. R242  
 Salas, L. R300  
 Salas, P.J.I. R190  
 Salazar, I. R300  
 Salazar, D. R281, R307  
 Salazar, S. R241  
 Salinas, N. R246  
 Saling, P.M. R208  
 Salpeter, M.M. R215  
 Saltiel, A. R197  
 Salvo, J. R300  
 San Martín, C. R290  
 San Martín, J. R301  
 Sánchez, C. R194  
 Sánchez, G. R316  
 Sánchez, H. R277, R301  
 Sánchez, P. R276  
 Sánchez, R. R238  
 Sánchez, V. R218  
 Sánchez, X. R196, R218, R301  
 Sánchez-Piña, M.A. R319  
 Sandino, A.M. R301  
 Sanjurjo, C. R208  
 Sans, J. R223, R224, R224,  
     R272  
 Sansone, G. R233  
 Santamaria, J.A. R302  
 Santelices, B. R191  
 Santibáñez, J.F. R271  
 Santos, M. R209, R210, R302  
 Santos, M.J. R197, R302  
 Sapag-Hagar, M. R271  
 Scardapane, L.A. R239  
 Scarpa, J. R241  
 Schäfer, J.W. R276  
 Schatten, G. R189, R204  
 Schatten, H. R204  
 Schinder, A.F. R251  
 Schmidt, P. R303  
 Schmiede, P. R225  
 Schuller, P. R303  
 Schuster, S. R291  
 Sciaraffia, C. R242  
 Seeger, M. R238  
 Seelenfreund, D. R303  
 Segovia, A. R265  
 Sepulveda, C. R223, R251  
 Sepúlveda, M.S. R303  
 Serón-Ferré, M. R313  
 Shapiro, L. R216

- Shyng, S.L. R215  
 Siddiqui, M.A.Q. R319  
 Sierra, F. R304  
 Sierralta, J. R313  
 Sila Filho, F.C R229  
 Silva T., G. R304  
 Silva, E. R249  
 Silva, H. R225  
 Silva, J. R304, R316  
 Silva, M.M. R254  
 Silva, N. R304  
 Silva, R. R245  
 Simerly, C. R204  
 Simonetti, J.A. R236  
 Simpfendorfer, R. R295  
 Singe, M. R257  
 Singer, M. R215  
 Skorin, C. R305  
 Slawinska, D. R314  
 Slawinski, J. R314  
 Slebe, J.C. R292  
 Sobrevía, L. R234, R305  
 Solari, A. R195, R313  
 Solari, A.J. R202  
 Soler, M. R305  
 Solis de Ovando, F. R293  
 Solis, A. Gigueroa, G. R267  
 Sonobe, M.H. R210  
 Sosa, M.A. R305  
 Soto, C. R306  
 Soto, J.P. R306  
 Soto, M. R300  
 Soto, U. R282  
 Soto, V. R267  
 Soto-Moyano, R. R299  
 Souto, M. R233  
 Souza, S.J. R263  
 Spencer, E. R290, R290  
 Spotorno, A. R219, R316  
 Standaert, M. R196  
 Stefani, E. R247  
 Stein, G.S. R209  
 Steiner, J. R241  
 Steussy, T. R220  
 Stojilkovic, S. R197  
 Stuardo, J. R310  
 Stutzin, A. R197, R217  
 Suárez, B. R192, R313  
 Suja, J.A. R299  
 Suwalsky, M. R306  
 Szecowka, J. R266  
 Tai, S. R306  
 Takamiya, M. R307  
 Tampier, L. R264  
 Tapia, G. R261  
 Tascón, S. R218, R240  
 Tchernitchin, A.N. R307  
 Telleria; C. R207  
 Téllez, R. R307  
 Téllez, V. R252  
 Tellez-Iñón, M.T. R194  
 Testillano, P.S. R319  
 Thielemann, L. R307  
 Thompson-Coffe, C. R204  
 Timasheff, S.N. R191,  
 R211, R263  
 Tobella, L. R241  
 Toledo, H. R216, R308  
 Toro, C.S. R308  
 Toro, G.C. R308  
 Torrealba, F. R308  
 Torrence, S. R252  
 Torres, A.I. R286  
 Torres, H.N. R194, R217  
 Tosti-Croce, E. R302  
 Traverso-Cori, A. R275  
 Trejo, M.E. R245  
 Tremblay, C. R309  
 Troncoso, A. R301  
 Troncoso, S. R251  
 Troncoso, V. R237  
 Uchitel, O.D. R251  
 Ugarte, G. R279  
 Ugarte, R. R309  
 Ulloa, R.M. R194  
 Unda, C. R307  
 Urdaneta, J. R309  
 Ureta, T. R311  
 Uribe, A. R294  
 Uribe, P. R251  
 Urresta, F. R309  
 Urzúa, H. R237  
 Urzúa, P. R312  
 Urzua, U. R310  
 Valdebenito, I. R227  
 Valdeomillos, M. R192  
 Valdés, E. R310  
 Valdés, M. R229  
 Valdivia, M. R261, R261  
 Valdivia, M.T. R266  
 Valdovinos, C. R310  
 Valenzuela, A. R256  
 Valenzuela, C. R243, R310

- Valenzuela, C.L. R278  
 Valenzuela, G.J. R319  
 Valenzuela, M.A. R311  
 Valenzuela, P. R213  
 Valenzuela, R. R311  
 Valladares, L. R301  
 Valladares, L.E. R298  
 Valverde, V.M. R311  
 Varela, P. R216, R311  
 Vargas, C. R226  
 Vargas, D. R307  
 Vargas, L. R268  
 Vargas, P. R228  
 Vargas, V. R235, R287, R312  
 Vásquez, C. R313  
 Vásquez, H. R258  
 Vásquez, X. R312  
 Vega, M. R312  
 Vega, P. R312  
 Vega-Petkovic, M.P.A. R307  
 Vega-Salas, D.E. R190  
 Vejar, X. R293  
 Velasco, N. R293  
 Velásquez, F. R254  
 Vélez, P. R313  
 Veloso, A. R248  
 Venegas, A. R216, R216, R272, R301  
 Venegas, J. R195, R306, R313  
 Venegas, L. R294  
 Vera, G. R293  
 Vera, M.I. R217, R298  
 Vergara, C. R232  
 Vergara, J. R292  
 Vergara, M. R313  
 Vergara, T. R245  
 Verge, D. R299  
 Verma, I.M. R235  
 Vial, J.D. 236  
 Vicuña, R. R191, R300  
 Vidal, A. R313  
 Vidal, M.A. R314  
 Videla, J. R303  
 Videla, L.A. R273  
 Vidiella, P.E. R314  
 Vieira, K.B.L. R314  
 Vigil, P. R280  
 Vila, I. R244  
 Vila, M. R196  
 Vilina, Y. R314  
 Villa, L.L. R314  
 Villablanca, M. R314  
 Villaflor, M.L. R225  
 Villagra A., M. R304  
 Villanueva, J. R217, R227  
 Villarroel, A. R242  
 Villegas, J. R315, R318  
 Vio, C.P. R295  
 Vivaldi, E. R316  
 Vivaldi, E.A. R283, R317  
 Vojkovic, A. R315  
 Vollrath, V. R315  
 Vriz, S. R215  
 Wal, D. R263  
 Walker, L.I. R316  
 Walkowiak, A.M. R316  
 Wallace, A. R316  
 Ward, P.H. R316  
 Weitz, P. R278  
 Werner, E. R317  
 White, A. R317  
 Whitford, W.G. R243  
 Whittingham, D.G. R193, R208  
 Wielandt, A.M. R317  
 Wolf, M. R222  
 Wolf, M.E. R222  
 Wolff, D. R217, R270  
 Wright, S. R204  
 Wu, C. R206  
 Wyneken, U. R283, R317  
 Yañez, A. R318  
 Yanisawa, K. R198  
 Youlton, R. R242  
 Yudelevich, A. R267  
 Yulis, C. R318  
 Zambrano, F. R297  
 Zamorano, B. R318  
 Zamorano-Ponce, E. R318  
 Zanlungo, S. R248  
 Zapata, A.M. R283  
 Zapata, P. R251  
 Zaror, I. R216, R276  
 Zárraga, A.M. R319  
 Zuleta, C.A. R319  
 Zúñiga, G.E. R276



**LITOGRAFIA MODERNA S.A.**



Empresas de la V Región

Auspiciadores del  
IV Congreso Iberoamericano  
de Biología Celular

Viña del Mar, Chile, Noviembre 21 al 25 de 1989

 **LanChile**  
AIRLINES



**BIOS CHILE I.G. S.A.**  
BIOS CHILE INGENIERIA GENETICA S.A.

**CAP**

**CAP S. A. DE INVERSIONES**

The Upjohn Company



1886-1986



**LABORATORIO CHILE S.A.**

**NESCAFÉ**  
M.R.

**Noble tradición en café.**

**Chocolates y Galletas**

***Costa***

M.R.

Las Transferpettes® 8 y 12 de BRAND. Ponemos algo completamente nuevo en su mano. Con ellas, manipulará todo mejor.

Con ellas raramente o nunca errará. Todos los controles de funciones están situados de tal modo que no pueden ser confundidos. Se operan con una sola mano —aun con la izquierda.

Experimente cuán útil puede ser un buen diseño. Las nuevas Transferpettes 8 y 12 de BRAND son ergonómicas y testificables. Alguna razón debe haber existido para que el Centro de Diseños de Stuttgart galardone a BRAND por el diseño de las Transferpettes. Aún más, son más livianas que otras pipetas multicanales.

Las puntas se acoplan herméticamente. Si las puntas de pipetas no fijan con seguridad, ninguna medición será correcta. Por ello se ha provisto a cada vástago de un anillo sellante de Viton. El esfuerzo desplegado en el diseño es su ganancia.

Una tecnología resultante en mediciones más precisas y seguras. Cada canal de succión de nuestra pipeta multicanal tiene su propio sistema de pistón. La parte dosificadora es completamente esterilizable. Sólo desmontarla para este propósito.

Sólo solicitarnos. Una detallada información sobre la tecnología y manejo de las Transferpettes 8 y 12 le será enviada.



Representante para Chile:

**W. Reichmann** y Cía. Ltda.

Miguel Claro 997 — Fonos: 2237237 — 2256171 — 465038  
Casilla 16553 — TX 341085 WREICH-CK SANTIAGO

UNIVERSIDAD DE CHILE



3 5601 15637 9053