

# Archivos de Biología y Medicina Experimentales

ORGANO DE LA  
Sociedad de Biología de Chile

Vol. 20

Noviembre 1987

Nº 2

UNIVERSIDAD DE CHILE



3 5601 15698 8283

Sociedad de Biología de Chile  
XXX REUNION ANUAL

Sociedad de Genética de Chile  
XX REUNION ANUAL

Sociedad de Bioquímica de Chile  
XI REUNION ANUAL

Sociedad de Farmacología de Chile  
IX REUNION ANUAL

Sociedad Chilena de Ciencias Fisiológicas  
II REUNION ANUAL

Resúmenes de  
Conferencias, Simposios y Comunicaciones  
25 al 28 de noviembre de 1987  
La Serena, 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 Química, 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: Independencia 1027, Casilla 16164, Santiago 9, Chile.

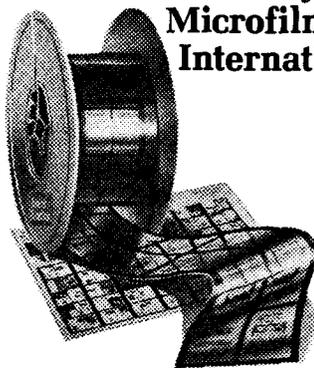
Toda correspondencia y suscripciones deben dirigirse a la Sociedad de Biología de Chile, Casilla 16164, Santiago 9, Chile.

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

Vol. 21, 1988, four issues:  
may, august, november and december.

Price per volume: US\$ 60,00 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. 20

Noviembre 1987

Nº 2

*Editor*

TITO URETA

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias  
Básicas y Farmacéuticas  
Universidad de Chile, Santiago

*Comité Editorial:*

JUAN CONCHA  
Instituto de Ciencias Médico-  
Biológicas, Universidad de Concepción,  
Concepción

LUIS VARGAS  
Instituto de Ciencias Biológicas  
Pontificia Universidad Católica de Chile  
Santiago

JUAN VIAL  
Instituto de Ciencias Biológicas  
Pontificia Universidad Católica de Chile,  
Santiago

*Ex-Officio*

JORGE BABUL  
Sociedad de Biología de Chile

*Comité Asesor*

JORGE ALLENDE, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile.  
CLAUDIO BARROS, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad Católica.  
DANKO BRNCIC, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile.  
EDUARDO BUSTOS, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile.  
LUIS CORCUERA, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.  
OSVALDO CORI, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Chile.  
RICARDO CRUZ-COKE, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile.  
JUAN FERNANDEZ, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.  
HUGO FOLCH, Instituto de Medicina Experimental, Universidad Austral de Chile.  
BRUNO GÜNTHER, Instituto de Ciencias Médico-Biológicas, Universidad de Concepción.  
GUSTAVO HOECKER, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile.

FEDERICO LEIGHTON, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad Católica  
JOAQUIN LUCO, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad Católica.  
HUMBERTO MATURANA, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.  
CARLOS MUÑOZ, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile.  
MARIO PENNA, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile.  
MARCO PERRETTA, Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos, Universidad de Chile.  
MANUEL RODRIGUEZ, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad Católica.  
FRANCISCO ROTHHAMMER, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile.  
ENNIO VIVALDI, Instituto de Ciencias Médico-Biológicas, Universidad de Concepción.  
ARTURO YUDELEVICH, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad Católica.

# Archivos de Biología y Medicina Experimentales

Vol. 20

Noviembre 1987

Nº 2

XXX REUNION ANUAL  
SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE  
XX REUNION ANUAL  
SOCIEDAD DE GENETICA DE CHILE  
XI REUNION ANUAL  
SOCIEDAD DE BIOQUIMICA DE CHILE  
IX REUNION ANUAL  
SOCIEDAD DE FARMACOLOGIA DE CHILE  
II REUNION ANUAL  
SOCIEDAD CHILENA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS

## INDICE RESUMENES DE

	Página
Conferencias	R 143
Simposios	R 144 – R 168
Comunicaciones Libres	R 170 – R 259
Indice de Autores Vol. 20, Nº 2, 1987	261

# Archivos de Biología y Medicina Experimentales

Vol. 20

November 1987

Nº 2

---

XXX ANNUAL MEETING  
SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE  
XX ANNUAL MEETING  
SOCIEDAD DE GENETICA DE CHILE  
XI ANNUAL MEETING  
SOCIEDAD DE BIOQUIMICA DE CHILE  
IX ANNUAL MEETING  
SOCIEDAD DE FARMACOLOGIA DE CHILE  
II ANNUAL MEETING  
SOCIEDAD CHILENA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS

## CONTENTS ABSTRACTS OF

	Page
Lectures	R 143
Symposia	R 144 – R 168
Communications	R 170 – R 259
Author's Index Vol. 20, Nº 2, 1987	261

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.

# CONFERENCIAS

EFFECTOS CARDIOVASCULARES DIRECTOS Y REFLEJOS DEL ETANOL. (Cardiovascular direct and reflex effects of ethanol). Penna, M. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se analizaron el efecto del etanol (EtOH) y su metabolito el acetaldehído (AcH) en diversas funciones del corazón.

Concentraciones bajas de EtOH mostraron acción inótropa positiva en aurículas de rata en ayunas, aisladas en solución Ringer Locke sin glucosa. Este efecto es impedido por 3-amino-1,2,4-triazol (AT) bloqueador de la catalasa.

El sobrenadante de homogenizados de corazón de rata (700 x g) es capaz de oxidar el EtOH hasta AcH. La adición de glucosa oxidasa al medio de incubación aumenta alrededor de 10 veces la recuperación de AcH, mientras que el bloqueo de la catalasa mediante AT disminuye en forma dosis dependiente la cantidad de AcH recuperado, aun en presencia de glucosa oxidasa. Esto sugiere que eventualmente la energía de la oxidación del EtOH pudiera ser utilizado por el miocardio.

En experimentos realizados en corazón de perro perfundido con flujo coronario constante, el EtOH, 2,8 g/l produjo una disminución significativa de la presión de perfusión, secundaria a la disminución de la resistencia coronaria total. En experimentos con flujo constante o con presión constante, el EtOH redistribuyó el flujo a través de la pared del ventrículo izquierdo aumentado en la región subendocárdica, probablemente por acción directa sobre los vasos coronarios.

El EtOH y el AcH administrados por vía endovenosa en bolo producen en la rata un triple reflejo caracterizado por bradicardia, hipotensión y apnea que es bloqueado por vagotomía. La latencia se reduce con la administración por vía respiratoria o en el ventrículo derecho. Este reflejo parece iniciarse en los receptores J pulmonares.

Proyectos B 2680/8715, DIB., Universidad de Chile y 0472 de Fondecyt, 1987.

Interaction of Fluorescently-labeled Contractile Proteins with the Cytoskeletons of Living and Permeabilized Muscle and Non-Muscle Cells. Sanger, J.W., Sanger, J.M. and Mittal, B. Department of Anatomy and Pennsylvania Muscle Institute, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania 19104-6058

One approach to the study of cell motility is the use of microinjection of fluorescently labeled proteins into living cells. When coupled with video microscopy and digital image processing, this approach makes it possible to visualize the dynamic interactions of specific proteins during various forms of cellular activity. Contractile proteins isolated from either muscle or non-muscle sources and labeled with fluorescent dyes will react in specific patterns with isolated myofibrils and permeabilized cells. For example, alpha-actinin and filamin react with Z-bands; actin binds to the free cross-bridges of the A-band; myosin light chains bind in a doublet pattern to the A-band; and tropomyosin does not bind to untreated myofibrils. Since these *in vitro* interactions differ for each contractile protein, they can serve as assays for fluorescent proteins that are to be injected into living cells. Microinjection of the fluorescent proteins into living cells has provided the means for following the changing patterns of distribution of actin, myosin, alpha-actinin and filamin during processes such as cell division and spreading as well as stress fiber and myofibril formation.



## NUEVAS PERSPECTIVAS EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Coordinador: *Antonio Morello*

**BASES BIOQUÍMICAS DE LA ACCIÓN DE DROGAS ANTICHAGÁSICAS.** (Biochemistry of the mode of action of antichagasic drugs).

Aldunate, J. (1), Repetto, V. (1), Coloma, L. (2), Moncada, C. (3), Letelier, M. E. (1), Morello, A. (1).  
(1)Facultad de Medicina, Universidad de Chile, (2)Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación, (3)Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

En la necesidad de una terapia racional para la enfermedad de Chagas se ha buscado blancos terapéuticos que afectando vías metabólicas claves del protozoo, no lo sean en los mamíferos que le sirven de hospedero. Considerando lo anterior se ha investigado el modo de acción de las drogas actualmente en uso, Nifurtimox y Benznidazol y otras de tipo experimental. Estas drogas afectan al T. cruzi ya que generan radicales libres, especies a las cuales el parásito es muy susceptible ya que presenta baja actividad de las enzimas que los destruyen. Otro grupo son análogos de purinas, por ej. el alopurinol, las que debido a la incapacidad del protozoo de sintetizarlas de novo y a la relativamente baja especificidad de la enzima succinato-AMP sintetasa se incorporan en los RNA del parásito con efectos letales para éste. En nuestro laboratorio nos hemos interesado en dos eventuales blancos quimioterapéuticos: a.- el ciclo del gamma glutamilo, donde se sintetiza y degrada el triptéido glutatión, agente atrapador de radicales libres y b.- la cadena respiratoria del T. cruzi, la cual a diferencia de los mamíferos presenta más de una oxidasa terminal.

FINANCIADO POR: UNDP/WB/WHO TDR, FONDECYT CHILE 4-1987, DIB U. CHILE B-1854.

**EFFECTO DE TNF E INTERFERON CONTRA PARASITOS INTRACELULARES. EL PROBLEMA DE T. CRUZI.** (TNF and interferon effects against intracellular parasites. The T. cruzi problem). A. Ferreira, S. Lavandero. Deptos. Biol. Cel. y Genética, Fac. Med. y Bioquímica y Biología Molecular Fac. Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

El efecto in vivo de gama interferon ( $\gamma$ -INF) y del factor de necrosis tumoral (TNF) ha sido probado en animales infectados con P. berghei y P. vivax ó con T. cruzi. En ratas, ratones y chimpances (Pan troglodytes)  $\gamma$ -INF suprimió cerca del 100% de la proliferación de las formas exoeritrocíticas, cuantificadas con una sonda de DNA de Plasmodio en ensayos de hibridización standard con DNA de hígado de animales infectados. El efecto del  $\gamma$ -INF no es mediado por un aumento del catabolismo del triptofano, como ocurre in vitro con Toxoplasma gondii. En ratas y ratones, TNF bloquea el ciclo biológico de los plasmidios, con ausencia de parasitemia, aunque sin afectar la proliferación intrahepatocítica. TNF carece de efecto si se suministra durante la fase sanguínea del ciclo.

En ratones A/J infectados con tripomastigotes de la cepa Y de T. cruzi, ambas citoquinas aumentan la pre-patencia en un día. Posteriormente, la parasitemia fué similar en experimentales y controles. La discrepancia entre estos resultados y los obtenidos en cultivos celulares por otros investigadores, podría deberse al tropismo por varios tipos celulares que estos parásitos presentan in vivo.

Financiado Proyectos: UNDP/World Bank/WHO y FONDECYT Nº 0463.

**"TRYPANOSOMA CRUZI Y ENFERMEDAD DE CHAGAS: ALCANCES CLÍNICOS Y EPIDEMIOLÓGICOS.** (Trypanosoma cruzi and Chagas' disease: Clinical and epidemiological aspects). Atías A., Muñoz P., Tassara R. y Reyes V. (Unidad de Parasitología Div. Cs. Méd. Occ., Fac. Medicina, Universidad de Chile.

El Trypanosoma cruzi, agente productor de la enfermedad de Chagas, es un protozoo cuyo ciclo biológico alterna en insectos hematófagos, los triatomas, y el hombre, además de mamíferos domésticos y silvestres. En Chile, la infección se extiende entre las Regiones I y VI y la prevalencia en el hombre es de alrededor del 18%, estimándose que el número de infectados es de 350.000. Sin embargo, no todos los infectados enferman. Los principales mecanismos de transmisión al hombre son por deyecciones del insecto vector, por transmisión congénita y por transfusión sanguínea.

Clínicamente, se distingue una forma adquirida y una forma congénita de la enfermedad. En la forma adquirida, existe un período agudo (generalmente inaparente o con lesiones de puerta de entrada de la infección), un largo período indeterminado o asintomático y un período crónico con importante compromiso del corazón y del tubo digestivo. La enfermedad de Chagas congénita se caracteriza por prematuridad, hepato y esplenomegalia, anemia, ictericia y compromiso variable del SNC.

De los problemas no resueltos en la enfermedad de Chagas, dos son los que concitan el mayor interés de los investigadores: la patogenia de las lesiones, con la secuencia de etapas tan sui generis, y las evidentes diferencias regionales en el tipo y gravedad de las formas clínicas en América Latina.

Financiado en parte por el Grant 24080 del UNDP/WORLD BANK/WHO/TDR.

**IMPORTANCIA DE LA TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA, EN LA TRANSMISIÓN DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS.** (Importance of the blood transfusion in the transmission of Chagas' disease).

Lorca M., Atías A., Reyes V., Canales M. Unidad de Parasitología, Div. Cs. Méd. Occ., Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El problema de Salud Pública creado por la transmisión del Trypanosoma cruzi por transfusión sanguínea es un hecho comprobado en Chile, pero del cual todavía no se conoce su real magnitud. Con el fin de conocer sus alcances, promover su conocimiento por los equipos de salud del país y llegar a proponer medidas de control, se efectuó el siguiente programa: a) Se construyó un mapa de prevalencia de la infección en donantes de bancos de sangre de la zona de endemia chagásica en Chile; b) Se estudiaron grupos de pacientes con mayor riesgo de infección por este mecanismo; c) Se desarrolló un programa de prevención, mediante descarte serológico de las sangres donadas en un hospital de la zona de endemia.

Las prevalencias de infección detectadas oscilaron entre un 2% y 29% en las zonas de baja y alta endemia y los riesgos teóricos de transmisión, entre un 0,5% y 6,6% respectivamente. En los pacientes politransfundidos, este riesgo se eleva hasta 8,7 veces más.

La aplicación del descarte serológico en 19.859 donantes de sangre de un hospital de zona de baja endemia, demostró una prevalencia de 2,23% (443 casos serológicamente positivos en dos años), considerando el riesgo teórico de transmisión de la infección, la prevención lograda habría sido de 18%; es decir, se habrían evitado 80 casos nuevos durante ese período. De acuerdo con estos antecedentes y al costo del control, consideramos que el plan se justifica plenamente y debiera mantenerse en todos los bancos de sangre de la zona de endemia chagásica del país, ya que la transmisión del T. cruzi mediante transfusión sanguínea constituiría en la actualidad, el segundo mecanismo de infección para el hombre después de la transmisión por el vector (vinchucas). (Financiado en parte por el Grant 24080 del UNDP/WORLD BANK/WHO/TDR).

PROTEINAS CROMOSOMALES Y EFECTO DE 5-AZACITIDINA EN LA PROLIFERACION DE Trypanosoma cruzi (Chromosomal proteins and the effect of 5-azacytidine in Trypanosoma cruzi proliferation). Toro, G.C.; Morales, M; Rojas, V. y Galanti, M. Depto. Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

T. cruzi es un protozoo hemoflagelado, agente causal de la enfermedad de Chagas. No se conocen los mecanismos moleculares que participan en la proliferación y diferenciación de este parásito. En este trabajo, se presentan algunas características de las histonas y otras proteínas cromosomales de alta movilidad electroforética (HMG) de este protozoo. Además, se describe el efecto de 5-azacitidina sobre la proliferación del parásito en cultivo.

A partir de cromatina de T. cruzi, se extrajo histonas en  $H_2SO_4$  0.4 N o en HCl 0.35 N. Las proteínas HMG se extrajeron en  $HClO_4$  0.75 M. Las proteínas cromosomales dializadas y liofilizadas se analizaron por electroforesis en geles de poliacrilamida en una y en dos dimensiones. Por otra parte, se midió el crecimiento de un cultivo de tripanosomas en presencia de 5-azacitidina  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$  M.

Se encontró 6 histonas. Al menos una de ellas presenta características de solubilidad e inmunológicas similares a H1. Se detectó también presencia de variantes en algunas de las histonas del parásito. Además, se encontró proteínas con características de solubilidad, peso molecular y migración electroforética que corresponden en general, a las descritas para las HMG de timo de ternera. Por último, se observó que 5-azacitidina estimula el crecimiento de los parásitos en cultivo.

Se concluye que la cromatina de T. cruzi presenta constituyentes similares a histonas y proteínas HMG de eucariontes superiores, aunque existen diferencias evidentes. Además el efecto de 5-azacitidina sugiere la participación de la metilación del DNA en la regulación de la proliferación de T. cruzi. (Grants 820599 UNDP/WB/WHO; B-2365 DIB, U. de Chile; 209 Fondecyt).

## INTERACCIONES POSITIVAS EN SISTEMAS ECOLOGICOS

Coordinador: *Bernabé Santelices*

INTERACCION ENTRE AVES FRUGIVORAS Y PLANTAS EN EL BOSQUE DE CHILOE: ¿OPORTUNISMO O COEVOLUCION? (Interaction between frugivorous birds and plants in the forest of Chiloé: opportunism or coevolution?). J.J. Armesto & R. Rozzi. Lab. Sistemática y Ecología Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La dispersión de las semillas de muchas especies de plantas depende del consumo de sus frutos por aves. Recientemente, el carácter coevolutivo, entre pares de especies, de esta interacción mutualista ha sido cuestionado, y se ha planteado la posibilidad de una coevolución difusa entre los dos grupos de organismos.

En el bosque templado de Chiloé (42°S), al menos 15 especies de Passeriformes consumen frutos, y más de un 70% de las especies de árboles y arbustos tienen frutos carnosos. Los frutos de una especie de planta son consumidos por varias especies de aves frugívoras y, a su vez, la mayor parte de los frugívoros incluye en su dieta frutos de más de una especie de planta. Además, con la posible excepción de dos especies, todas las aves se alimentan también de insectos. El oportunismo dietario parece ser predominante entre las aves dispersantes de semillas. Estos datos no demuestran una relación de dependencia entre pares de especies, por lo que las posibilidades de coevolución son bajas.

En estudios de la flora del Archipiélago de Chiloé se ha documentado que la dispersión de semillas por aves es el mecanismo de colonización más efectivo. La efectividad de la dispersión no estaría asociada, sin embargo, con una historia de cambios genéticos recíprocos entre especies (coevolución), sino con la ocurrencia de interacciones entre conjuntos de especies de aves y plantas que son variables espacial y temporalmente.

Proyecto D.I.B. Universidad de Chile N° 2210-8735.

Proyecto FONDECYT N° 1461

INTERACCIONES POSITIVAS EN EL ASENTAMIENTO LARVAL DE BRYOZOA. (Positive interactions at larval settlement in Bryozoa). Cancino, J. M. Depto. de Biología Ambiental y de Poblaciones, P. Universidad Católica de Chile.

Para organismos coloniales sésiles la identidad de los vecinos más cercanos es muy importante, ya que debido al crecimiento indeterminado, colonias vecinas pueden entrar en contacto compitiendo por sustrato y alimento. En briozoos incrustantes los contactos coloniales inter-específicos terminan en sobrecrecimiento, con mortalidad de zooides, pérdida de espacio y posiblemente menor fecundidad de la colonia sobrecrecida. En cambio, no hay sobrecrecimiento en los contactos intra-específicos, por lo que la formación de grupos mono-específicos de colonias pueden ser interpretadas como una interacción positiva que evita competencia interespecífica y facilita la fecundación cruzada.

En el presente trabajo se documenta la existencia de grupos mono-específicos en briozoos incrustantes y se discuten los mecanismos de formación de grupos y sus consecuencias. La formación de grupos está mediada por respuestas larvales durante el asentamiento a factores que van desde gradientes física a la naturaleza química del sustrato y la identidad de los ocupantes previos. En briozoos se conocen varios mecanismos que aparentemente estimulan el endocruzamiento generando poblaciones locales altamente emparentadas. Por lo tanto, las agrupaciones mono-específicas no sólo aumentarían las probabilidades de sobrevivencia de sus miembros, sino que además podrían ser un mecanismo muy eficiente de perpetuación de la información genética común al grupo.

Financiamiento DIUC 96/87

COEVOLUCION ENTRE PLANTAS Y POLINIZADORES: ¿SE DAN LAS CONDICIONES EN LOS ANDES CHILENOS? (Does pollinator-plant coevolution occur in the Chilean Andes?). Arroyo, M. T. Kalin, Rozzi, R., y Squeo, F. A., Fac. Ciencias, U. de Chile y Fac. Ciencias, U. de La Serena.

La posibilidad de coevolución entre dos o más organismos con respecto a determinados caracteres, requiere que la interacción tenga cierta constancia temporal y espacial, que la selección ejercida por el conjunto de organismos no sea divergente, y que el valor de la interacción para el éxito reproductivo de estos organismos sea alto con respecto a otros factores que influyen en la evolución de los respectivos caracteres. Analizamos los niveles de dependencia entre especies de plantas y polinizadores en los Andes chilenos, y nos preguntamos si se dan las condiciones que posibilitarían la coevolución en este sistema.

Los órdenes de insectos polinizadores que visitan un mismo taxon cambian latitudinal y altitudinalmente, e inclusive entre laderas de distintas exposiciones. La variación en los polinizadores de cada taxa sigue la tendencia registrada al nivel de la comunidad total. A su vez, las especies de planta que visita un determinado taxon de polinizador también varían espacialmente. Una situación análoga ocurre en la dimensión temporal. Por otro lado, una alta proporción de los taxa vegetales son visitados por diversos órdenes de insectos, e inversamente cada taxon de polinizador visita un número apreciable de taxa vegetales.

La falta de constancia y especificidad en las relaciones planta-polinizador en los Andes chilenos sugiere que la coevolución estrecha es improbable, y enfatiza que el concepto de síndrome es inoperante. La situación en los Andes podría estar relacionada con las diferentes respuestas de la vegetación y los conjuntos de polinizadores a factores abióticos.

FONDECYT 1389 y DIB, U. de Chile N1755-8745 (MTKA).

LA COMPLEJA TRAMA DE INTERACCIONES BIOLÓGICAS EN UNA COMUNIDAD INTERMAREAL DE CHILE CENTRAL. (The complex web of biological interactions in an intertidal marine community of Chile). Castilla J.C., Depto. de Biología Ambiental y de Poblaciones, Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: F. Jakšić).

Una comunidad biológica entendida como un grupo de especies o poblaciones que coexisten en un lugar particular y cuyos elementos estructurales involucran dos o más niveles enlazados por relaciones tróficas encierra una compleja trama de interacciones biológicas. Estas pueden darse en forma horizontal y vertical. En este trabajo la atención se focaliza en el último tipo de interacción y se presentan resultados que caracterizan efectos intertróficos asociados con el mecanismo biológico de la depredación.

Los depredadores de alto nivel trófico que muestran "interacciones biológicas fuertes" son numerosos en el intermareal rocoso de Chile Central: Concholepas concholepas "loco"; Helianthus helianthus "sol de mar"; Acanthocyclus spp. Más aún, este sistema está sujeto constantemente a la remoción selectiva y eficiente de algunas especies críticas (i.e. C. concholepas) por parte de los mariscadores de orilla. La aplicación del protocolo experimental con estos depredadores ha demostrado que no sólo es posible detectar y medir interacciones directas de signo positivo o negativo, sino que además un sinnúmero de efectos indirectos, de cascadas o mutualistas en el sentido amplio. Esta compleja trama de interacciones biológicas es parcialmente responsable de los panoramas comunitarios del intermareal rocoso de Chile Central.

INTERACCIONES POSITIVAS EN ASOCIACIONES BIOLÓGICAS DE HELMINTOS Y HUESPEDES EN TRAMAS TROPICAS. (Positive interactions in biological associations of helminths and hosts in food webs). George-Nascimento, M. Area BIOTECMAR, Pontificia Universidad Católica de Chile, Sede Talcahuano.

Entre las interacciones interespecíficas, la depredación está casi ausente en las infracomunidades de helmintos parásitos, que sin embargo, son transmitidos por las relaciones tróficas de sus huéspedes. Por esto, es que la competencia ha recibido mayor atención. Aquí reviso casos, condiciones y concepciones de mutualismo, directo o indirecto, entre helmintos, o entre huéspedes y helmintos. Se discute de la necesidad de que para que la existencia de mutualismo entre huésped y helminto sea tal, éste no debe ser patógeno para el huésped. Los mejores candidatos para el mutualismo entre huéspedes y helmintos serían los macroparásitos y sus huéspedes definitivos. Un mecanismo serían los casos en que los huéspedes infectados tienen su conducta alterada, lo que como presas los predispone a ser más fácilmente consumidos por alguno de sus huéspedes definitivos. Se explora las condiciones de un modelo experimental que permitiría discernir acerca de la existencia o no de mutualismo entre helmintos. Sin embargo, la evidencia de terreno aún no colectada, seguramente revelará una baja prevalencia, debido a la frecuencia sobredispersión de las infrapoblaciones parasitarias que habitan en las poblaciones de huéspedes. En las tramas tróficas la co-transmisión de helmintos podría ser un mecanismo de mutualismo entre ellos.

Trabajo financiado por el Proyecto FONDECYT 1161/86.

DIGESTION POR PASTOREADORES ESTIMULA REPRODUCCION EN MACROALGAS. (Digestion by grazers stimulates reproduction in macroalgae). Santelices, B. Depto. de Biología Ambiental y de Poblaciones, Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

A pesar que en plantas terrestres los fenómenos de herbivoría pueden facilitar dispersión de frutos y germinación de semilla, sólo recientemente se han descrito fenómenos análogos entre plantas marinas. Este trabajo hace un recuento de dichos hallazgos los que se iniciaron con observaciones de terreno y estudios experimentales de laboratorio orientados a medir la habilidad de macroalgas para sobrevivir digestión por herbívoros. Esta capacidad ha emergido como una adaptación especialmente común entre especies de algas con estrategias de vida oportunistas y que primero fue interpretada como mecanismo de escape a herbivoría especialmente importante a nivel de poblaciones. Estudios más recientes, sin embargo, están indicando que el paso de talos vegetativos de estas especies de algas a través del tracto digestivo de pastoreadores y su digestión incompleta estimula la transformación de células vegetativas en células reproductivas, capaces de fijarse sobre el sustrato y generar nuevos individuos. Los resultados también indican notables diferencias en las capacidades de distintos pastoreadores para generar estas respuestas. Una comparación de estos hallazgos con fenómenos similares en ambientes terrestres indica similitudes y diferencias importantes.

Trabajo financiado por Proyectos DIUC 67/87 y FONDECYT 1182

ECOLOGIA DEL MUTUALISMO: CONTEXTO TEORICO PARA EL ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES POSITIVAS EN COMUNIDADES. (Ecology of mutualism: theoretical context for the study of positive interactions in communities). Jaksic, F. Depto. de Biología Ambiental y de Poblaciones, Fac. de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La Ecología de Comunidades estudia las interacciones entre organismos simpátricos y los patrones de distribución y abundancia que ellas generan. El marco conceptual está dominado por la Teoría de Competencia, con aportes de la embrionaria Teoría de Depredación. Ambos cuerpos teóricos estudian fenómenos antagónicos, en que una población se beneficia y la otra se perjudica. En este contexto, la herbivoría y el parasitismo son interpretados como fenómenos en que los organismos interactuantes se antagonizan.

Sin embargo, existen situaciones que son mutuamente benéficas para los organismos interactuantes, por ejemplo, la polinización mediada por animales. Algunos casos de nectarivoría, frugivoría, herbivoría y parasitismo se han interpretado como beneficiosos para ambas partes, o beneficiosos para una y neutros para la otra. El reconocimiento de la competencia difusa, de la asimetría competitiva y de la alternancia de presas ha llevado a reconocer que la combinatoria de interacciones individualmente negativas puede producir resultados positivos.

La facilitación de características de la historia de vida de un organismo por otro, se engloba en lo que podría denominarse "Ecología del Mutualismo". Dentro de este contexto, el mutualismo puede descomponerse en directo e indirecto y pueden reconocerse distintas intensidades de acoplamiento co-evolutivo. En el sentido de mayor a menor grado de acoplamiento estos fenómenos son: mutualismo obligatorio, facultativo, comensalista, competitivo y trófico (estos dos últimos son mutualismos indirectos). En este simposio se expondrán las distintas formas de mutualismo, usando estudios de casos marinos y terrestres, botánicos y zoológicos, para ejemplificarlas.

## BIOLOGIA CELULAR DE LA REPRODUCCION

Coordinador: Claudio Barros

**ETAPAS DE LAS INTERACCIONES GAMÉTICAS QUE LLEVAN A LA FECUNDACION.** (Steps in gamete interactions leading to fertilization). Barros, C. Laboratorio de Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

En la fecundación en mamíferos la primera asociación gamética que se establece es aquella entre el espermatozoide y las células del cúmulo oóforo, el cual aparentemente no es especie específica ni requiere de mediador alguno. La segunda se establece entre el espermatozoide y la zona pelúcida, asociación que en la mayor parte de las especies es especie específica. En esta asociación se establece primero una unión débil, aparentemente no especie específico, y luego una unión más fuerte, especie específica. En esta unión se ha identificado un receptor espermático a nivel de la zona pelúcida del ratón y el que es parte de la glicoproteína ZP3. En el espermatozoide, esta unión se ha asociado a la presencia de una glicosiltransferasa presente en la membrana plasmática que sobreyace al acrosoma y también a la acrosina, la que podría participar tanto en la unión como en la penetración del espermatozoide. El paso a través de la zona depende además de estas uniones del ángulo de asociación. Si es perpendicular a la superficie de la zona, la unión se establece pero la penetración se ve inhibida, en tanto que si la asociación es a través de las caras planas del espermatozoide, se establece la asociación y la penetración es exitosa. La asociación entre el espermatozoide y la membrana plasmática no es especie-específica y se establece entre la microvellosidad y la membrana plasmática que recubre el segmento ecuatorial o la región postacrosómica del espermatozoide. La decondensación de la cromatina espermática depende del estado del ciclo en que se encuentre el ovocito.

Esta actividad se ve afectada rápidamente con el envejecimiento del ovocito. Financiado por Grant DIUC 74/87 y Fundación Rockefeller GA PS 8710.

**INTERACCION GAMETO EPIDIDIMARIA. MODIFICACIONES ULTRAESTRUCTURALES DEL PLASMALEMA.** (Interaction gamete-epididymis. Ultrastructural modification of the plasmamembrane). M. H. Burgos. IHEM. Facultad de Ciencias Médicas. UNC. CONICET. Mendoza. Argentina.

Durante el tránsito epididimario ocurren cambios en el plasmalema del espermatozoide que se relacionan con el proceso de maduración del mismo.

El estudio comparado en tres especies de roedores (hamster, cobayo, y Galea musteloides) nos ha revelado modificaciones comunes y diferencias.

En el caso del hamster se observa por criofractura la aparición transitoria de áreas de la membrana plasmática de aspecto cristalino hexagonal en la región principal del acrosoma, durante el tránsito por el cuerpo del epidídimo. Esta formación se desvanece al terminar su recorrido en la región caudal del mismo. Algo semejante ocurre en el cobayo con la diferencia que el aspecto hexagonal aparece recién al terminar el tránsito epididimario en su región caudal.

Si bien no se conoce la causa y función de estas áreas cristalinas hexagonales, en nuestras observaciones aparentemente estarían vinculadas a la adhesión de las cabezas de los espermatozoides cuando estas forman pilas (cobayo) o se conglomeran (hamster).

Otro cambio que es común a las tres especies lo constituye el aumento del número de partículas intramembranas de 13 nm de diámetro en la región postacrosomal al finalizar el tránsito epididimario. Estas partículas probablemente estarían vinculadas a la incorporación de proteínas que intervendrían en el reconocimiento intergamético. El problema de como se incorporarían estas partículas al plasmalema como proteínas intrínsecas, pues están en la hemimembrana interna o fase P de la misma, encontraría una explicación en una mayor fluidez de la membrana postacrosomal y en una aparente interacción de la misma con las esterocilias y con vesículas y gránulos secretados por el epidídimo.

**MECANISMOS MOLECULARES DE LA MADURACION ESPERMATICA.** (Molecular mechanisms of sperm maturation). Blaquier, J.A. Instituto de Biología y Medicina Experimental, Obitgado 2490, 1428 Buenos Aires, Argentina.

Los espermatozoides de mamíferos en su tránsito por el epidídimo sufren un proceso de maduración que les confiere su capacidad fecundante. Este proceso incluye cambios tales como la adquisición de motilidad progresiva, el reconocimiento de la zona pelúcida (ZP) de su misma especie y la capacidad fecundante.

La evidencia experimental existente establece la participación de productos secretorios andrógeno-dependientes del epidídimo en estos procesos. En la rata, se ha bloqueado la fecundación in vivo preincubando los espermatozoides con un anticuerpo contra una proteína de 37 kD que produce el epidídimo y se asocia a los espermatozoides. Así mismo, los espermatozoides inmaduros del hamster aumentan su capacidad de reconocer y unirse a la ZP homóloga cuando son cultivados con túbulos epididimarios estimulados por andrógenos. Este mismo resultado se obtuvo incubando los espermatozoides inmaduros con preparaciones de proteínas epididimarias purificadas. Más aún, se comprobó que esta incubación aumentaba significativamente la capacidad fecundante de los espermatozoides inmaduros. De estas evidencias surgió como hipótesis que las proteínas secretorias del epidídimo participan en el desarrollo de un sitio específico de la membrana que sirve para reconocer su contraparte en la zona pelúcida homóloga.

Algunos resultados recientes permiten establecer la existencia de proteínas andrógeno-dependientes que se unen al espermatozoide y que se producen en la región del cuerpo del epidídimo humano, lugar donde primero aparece una pequeña población de espermatozoides fértiles. Un estudio comparativo de la localización y contenido de estos antígenos en los espermatozoides eyaculados de donantes fértiles y pacientes estériles sin causa aparente mostró que una subpoblación (40%) de los pacientes presentaba menor contenido y una localización de los antígenos significativamente diferente de los controles. Si postulamos que los antígenos epididimarios del hombre juegan un papel similar al de los antígenos de rata y/o hamster, podemos sospechar una relación entre la esterilidad de estos pacientes y las anomalías encontradas. Financiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas de Argentina y por el grant HD 15920 de NICHD.

**CARACTERIZACION DE LA MADURACION ESPERMATICA EN MAMIFEROS.** (Characterization of sperm maturation in mammals). Bustos-Obregón, E. (Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile).

Son numerosos los cambios que el espermatozoide experimenta a lo largo del tránsito epididimario en el proceso de maduración espermática, indispensable para la adquisición de la capacidad fertilizante.

Nuestro grupo ha estudiado particularmente la condensación de la cromatina, debida a la formación de enlaces S-S, en animales estacionales. Así se observa en potros en período fuera de monta una hipermaduración nuclear, con mayor resistencia a la decondensación por agentes reductores que en el potro en período reproductivo. Muestran también diferencias significativas entre ambos períodos la concentración espermática y de ATP en semen, así como la motilidad objetiva y la vitalidad, las cuales se observan también en semen congelado. En ambas estaciones, la condensación nuclear, el movimiento de traslación y la motilidad (objetiva y subjetiva) muestran una gradiente en ascenso desde cabeza del epidídimo a deferente. La transición entre segmento proximal y medio del epidídimo muestra maduración espermática en el potro. Esta en cambio se completaría en la cola del epidídimo para el macho cabrío, así como para el carnero. En este último, hay una alta correlación entre tasa de preñez y descondensación inducida de la cromatina espermática. Experiencias con antiandrógenos en *Ocotodon degus* muestran la dependencia de la maduración espermática de la estación reproductiva y las tasas circulantes de testosterona.

(DIB # B-2685-8712; FONDECYT 509/87).

## MATRIZ EXTRACELULAR Y DIFERENCIACION CELULAR

Coordinador: *Nivaldo Inestrosa*

**MATRIZ EXTRACELULAR Y TUMORIGENESIS.** (Extracellular matrix and tumorigenesis). Arias, J.L. Depto. Cs. Biológicas Animales, Facultad de Cs. Veterinarias, Universidad de Chile.

En su acepción un tumor es el resultado de una inusual proliferación celular y generalmente consiste en una anormal asociación entre la población de células neoplásicas y las células normales del huésped. Parte importante del comportamiento biológico y patológico de diversos tumores puede ser explicado a través de los cambios en la naturaleza, composición relativa y distribución de diversos componentes de la matriz extracelular (MEC) y sus interrelaciones con las células tumorales. Así, en el establecimiento espacial de un tumor influyen entre otras alteraciones fenotípicas de las células neoplásicas, la alteración de la adhesión intercelular y un selectivo aumento de la fijación a componentes específicos de las membranas basales (ej. fibronectina, laminina). Más aún, se ha demostrado que algunas modificaciones en la expresión génica de las células del tumor pueden relacionarse con alteraciones en la naturaleza y composición relativa de algunos componentes de la MEC generadas tanto por las células normales del tumor en respuesta a la presencia de las células neoplásicas o por éstas por se.

Por otra parte, el desarrollo de un tumor metastático consiste en la migración a distancia de algunas células neoplásicas a través de distintos compartimientos tisulares especialmente abundantes en MEC hasta alcanzar su sitio blanco de la metástasis. Así se ha propuesto que la secuencia de eventos repetitivos que ocurren durante la invasión tumoral se pueden caracterizar en tres etapas principales, a saber: a) adhesión de las células neoplásicas a la MEC, b) secreción por parte de las diferentes células del tumor de enzimas proteolíticas, c) locomoción dirigida de las células neoplásicas a través de la MEC modificada.

**COMPONENTES DE LAS MATRICES EXTRACELULARES DEL TESTICULO: CAPACIDAD ANTIGENICA Y PAPEL EN LA DIFERENCIACION CELULAR.** (Components of the extracellular matrices of the testis: Antigenic capacity and role on cellular differentiation). Denduchis, B., Lustig, L. Centro de Investigaciones en Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

La importancia de la matriz extracelular como un componente esencial para la función normal de las células ha sido recientemente re conocida. En el caso del testículo las células peritubulares y las células de Sertoli intervienen cooperativamente en la síntesis de los distintos componentes de la matriz extracelular: fibronectina, proteoglicanos, colágeno tipo I y IV y laminina. Estas sustancias son depositadas como fibrillas extracelulares o formando parte de una estructura compleja como la membrana basal del túbulo seminífero. Dicha matriz extracelular intervendría como reguladora en el proceso de diferenciación de la célula de Sertoli e indirectamente, en el normal funcionamiento de las células germinales (Hadley y col., 1985; Tung y Fritz, 1986). En efecto, se ha demostrado, in vitro, que las células de Sertoli y las células germinales sólo se diferencian si son cultivadas sobre una matriz extracelular completa.

En relación a la capacidad antigénica de los componentes de la matriz extracelular, hemos estudiado los efectos inducidos en el testículo de la rata por la inmunización activa con laminina (Lam) proveniente de un tumor aurino y con una fracción (D-STBM) aislada de la membrana basal del testículo de la rata que posee determinantes antigénicos comunes con Lam. Ratas inmunizadas con Lam e con D-STBM en presencia de adyuvante de Freund completo y Bordetella Pertussis como coadyuvante desarrollaron lesiones testiculares en el 82% y 57% de los animales, respectivamente. En ambos casos las lesiones se caracterizaron por la presencia de múltiples focos de túbulos con distinto grado de descamación del epitelio germinal y/o atrofia tubular, vacuolización del citoplasma de la célula de Sertoli y alteraciones de la pared tubular. Una respuesta de inmunidad humoral y celular a Lam fue detectada en el 100% de los animales inmunizados con Laminina.

**LA MATRIZ EXTRACELULAR Y LAS FIBRAS DEL SISTEMA ELASTICO.** (The Extracellular Matrix and the Fibers of the Elastic System). Cotta-Pereira, G. Instituto de Anatomía y Embriología, Universidad Federal de Río de Janeiro, Brasil.

La matriz extracelular (MEC) es un complejo morfofuncional de varios grupos de macromoléculas que desempeñan un papel importante en la sustentación mecánica y en el intercambio de nutrientes y catabolitos entre células y sangre. Las principales macromoléculas presentes en la MEC son los colágenos, las glicoproteínas, los proteoglicanos y las elastinas.

Estas substancias muestran diferentes niveles de organización. Los colágenos forman una familia de polipéptidos que exhiben la capacidad de asociarse formando estructuras filamentosas. Las glicoproteínas y proteoglicanos son importantes elementos de unión entre los constituyentes fibrosos y las células, y actúan tanto en el reconocimiento celular como en los procesos de destrucción y reparación de tejidos.

Finalmente existe el llamado sistema de fibras elásticas, en el cual las moléculas de elastina soluble se asocian a través de uniones entrecruzadas dando origen a la elastina insoluble, las cuales, a su vez se unen a microfibrillas de aspecto tubular para formar las fibras del sistema elástico, las que incluyen las fibras oxitalánicas, las fibras elauínicas y las fibras elásticas. En general se puede decir que el sistema de fibras elásticas, junto a las de colágeno confiere a la base estructural a cada tejido.

**LA MATRIZ EXTRACELULAR Y EL NACIMIENTO DE UNA NUEVA ERA.** (The Extracellular Matrix and the Birth of a New Era). Inestrosa, N.C. Unidad de Neurobiología Molecular, Depto. Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile, Santiago

La importancia de la matriz extracelular (MEC) para el crecimiento celular y la diferenciación in vivo, ha existido por décadas en los campos de la embriología y biología del desarrollo, sin embargo y aún cuando se sabe que la MEC contiene señales que dirigen la diferenciación, el progreso en el estudio de su influencia ha sido impedido hasta muy recientemente, por su complejidad química y la insolubilidad generada por el excesivo entrecruzamiento entre sus componentes.

El renacimiento del interés en la biología de la MEC es en parte un reflejo de los desarrollos técnicos y teóricos en biología celular y molecular, los que han permitido analizar mecanismos moleculares que modulan la expresión génica de las células.

Entre los elementos importantes a considerar están los siguientes: (1) la composición de la MEC que rodea a las células depende del tipo celular, del grado de diferenciación celular y de las células que se encuentren en el microambiente próximo. (2) los elementos de la MEC se comunican con el citoesqueleto celular a través de interacciones de transmembrana que involucran a receptores celulares específicos llamadas Integrinas y (3) la multiplicidad de funciones que puede ejercer la MEC, estaría dada no sólo por la variedad de moléculas que la componen, sino que también por las características de éstas, incluyendo el estar formadas por múltiples dominios, como en el caso de fibronectina, donde coexisten más de 5 dominios globulares diferentes.

ROL DE MATRIZ EXTRACELULAR EN HEMATOPOYESIS. (Extra - cellular matrix and hemopoiesis). Minguell, J.J., Fernández, M., Tetas, M. y Barahona C. Unidad de Biología Celular. INTA. Universidad de Chile.

El espacio hematopoyético en la médula ósea, es un complejo sistema celular que define una verdadera arquitectura conformada por células hematopoyéticas y células de estroma. Ambas poblaciones tienen un origen clonal diferente y mecanismos propios de regulación.

Los componentes de matriz extracelular (ME) generados en el espacio hematopoyético por las células de estroma se organizan en una matriz extracelular "hematocompetente", con lo cual el proceso hematopoyético recién es capaz de iniciarse. La génesis de la ME no parece ser un proceso tipo "todo o nada", sino que es un delicado proceso en el cual las células productoras de biomoléculas de ME están finamente reguladas. Así, es posible sintetizar el tipo de moléculas de matriz adecuadas para compensar los requerimientos locales en el tiempo y el espacio relacionado con migración, proliferación y diferenciación celular.

La contribución particular de cada fenotipo de estroma en la síntesis de elementos de ME está sólo parcialmente aclarado. Así, se conoce que fibroblastos producen colágeno I y III, fibronectina y varios tipos de GAGs. Células endoteliales producen colágeno IV y V, heparan sulfato, ácido hialurónico y condroitin sulfato. La contribución de adipocitos y macrófagos como componentes de estroma a la formación de compuestos de ME no se conoce.

A pesar de la enorme información que hay sobre el proceso hematopoyético y su regulación, no se conoce cual es la "composición" de la ME que permita la expresión activa y completa de la hematopoyesis normal ni en enfermedades hematológicas.

## PROLIFERACION CELULAR

Coordinador: *Norbel Galanti*

**EL CICLO NUCLEOLAR EN EL CICLO PROLIFERATIVO CELULAR** (Nucleolar cycle in the cell proliferation cycle). Giménez-Martín, G.; Giménez Abián, M.I.; Giménez Abián, J.F. y De la Torre, C. Instituto de Biología Celular (CIB) Velázquez 144-28006, Madrid, España.

El nucleólo presenta durante el ciclo celular un ciclo propio diferenciable de los clásicos G<sub>1</sub>-S-G<sub>2</sub>-M del ciclo nuclear que básicamente puede dividirse en: a) Desorganización nucleolar - b) No visible como material organizado - c) Reorganización nucleolar o nucleogénesis y d) Nucleólo organizado o maduro. Estos períodos pueden contrastarse con los estadios del ciclo nuclear y establecerse una correlación entre un ciclo y otro. En general, la coincidencia morfológica entre ambos ciclos existe a nivel de los pasos Profase-Metafase y Desorganización-No visible y a esos niveles pueden establecerse sus relaciones hacia atrás y hacia adelante de ambos ciclos, las cuales son diferentes conforme el tipo celular en ciclo proliferativo de que se trate.

La medida cuantitativa de las diferentes fases del ciclo nucleolar ha permitido mediante marcado celular utilización de inhibidores específicos e isótopos radiactivos analizar la actividad del nucleólo durante el ciclo celular, el desarrollo de sus componentes fibrilar y granular y los factores que intervienen durante el proceso de nucleogénesis, tales como, los cuerpos prenucleolares y la biosíntesis de RNA de encendido del proceso.

El estudio mediante células multinucleadas heteroploides ha permitido el señalar al cromosoma con organizador nucleolar como un elemento imprescindible para la iniciación de los períodos replicativos y mitóticos

Comisión Asesora Investigación Científica España y Convenio U. de Chile - C.S.I.C., España.

**EXPRESION GENICA Y CONDENSACION DE LA CROMATINA DURANTE LA MITOSIS** (Gene expression and chromatin condensation during mitosis) Sana, J., Mergudich, D. y Levton, C. Dpto. Biol. Cel. y Gen. Fac. Medicina, Universidad de Chile.

El inicio de la mitosis está marcada por un incremento significativo del grado de condensación de la cromatina. Esta condensación es inducida por un factor proteico, el cual se haya sólo en células en mitosis.

Nuestro interés se ha centrado en estudiar, desde un punto de vista citológico, si la condensación de la cromatina que ocurre durante la mitosis depende de expresión de genes particulares durante esta etapa del ciclo. Hemos utilizado como material biológico células meristemáticas de raíces adventicias de *A. cepa* L. obtenidas por un cultivo hidropónico de bulbos.

El tratamiento de células en profase con un inhibidor de síntesis de proteínas (cicloheximida 1 µg/ml) o bien mediante la utilización de una metodología que altera la expresión génica como es la irradiación con luz de 313 nm de células en profase con genoma bromo-sustituido, impide el paso de las células a metafase e induce decondensación de la cromatina.

Tratamientos similares efectuados en células meristemáticas acumuladas en metafase por acción de colchicina (0.05%) induce decondensación de los cromosomas y formación de núcleos de restitución, cuya forma refleja la distribución que tenían los cromosomas durante la metafase colchicinada.

Los resultados sugieren que durante la mitosis se expresarían genes que inducen y mantienen la condensación cromosómica. La alteración de la expresión de estos genes antes del ensamblaje de la envoltura nuclear provoca un retorno de las células a G<sub>1</sub>. En cambio si esta se lleva a cabo después que la envoltura nuclear se ha ensamblado, induce la formación de núcleos de restitución.

Proyectos B-2365/8613 y B-2365/8723 D.I.B., U. de Chile Convenio Universidad de Chile- C.S.I.C., España.

**INDUCCION DIFERENCIAL DE SINTESIS DE DNA-MITOSIS Y CRECIMIENTO EN CELULAS ACINARES DE PAROTIDAS.**

(Differential induction of DNA synthesis-mitosis and cell growth in parotid acinar cells). López Solís, R.O., González, M.J., Alliende, C. y Díaz, H. Dpto. de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La concepción del ciclo proliferativo como compuesto por un ciclo de crecimiento y otro que incluye la síntesis de DNA y la mitosis ha sido fundamentada recientemente por la implementación de modelos de estudio en que ambas respuestas celulares pueden ser dissociadas. En ratones, la administración intraperitoneal de isoproterenol induce proliferación celular en las glándulas parótidas, situación que ha permitido correlacionar diversos procesos celulares y moleculares a tal respuesta. En este modelo, la inducción diferencial de la respuesta de síntesis de DNA-mitosis vs la respuesta de crecimiento, ha sido abordada recientemente. Por una parte, en condiciones de estimulación crónica se obtiene inducción de síntesis de DNA-mitosis y crecimiento celular durante 5 días y sólo de crecimiento celular en los 7 días siguientes. Por otra parte, al evaluar la acción de diversos análogos estructurales de isoproterenol se ha logrado establecer que algunos de ellos inducen preferentemente síntesis de DNA-mitosis o crecimiento celular. En estas condiciones de disociación experimental ha sido posible vincular algunos procesos metabólicos particularmente a la respuesta de síntesis de DNA-mitosis (desialilación de la membrana plasmática) y otros a la de crecimiento celular (síntesis de nuevos polipéptidos).

Proyecto DIB B-2366, Universidad de Chile.

**REDUCCION UNIVALENTE DEL OXIGENO Y ESTRES OXIDATIVO CELULAR** (Univalent reduction of oxygen and cellular oxidative stress). Vidal, L.A. & Fernández, V. Unidad de Bioquímica, Depto. Ciencias Biológicas, Facultad de Medicina-División Occidental, Universidad de Chile.

La estructura orbitalaria del O<sub>2</sub> indica la presencia de 2 electrones (e) desapareados en el nivel más externo, con el mismo spin. Los procesos de reducción del O<sub>2</sub> se enfrentan a 2 tipos de restricciones: a) restricción de spin por la cual el agente reductor debe proveer de un par de e con spin paralelo para llenar los espacios orbitalarios vacantes, y b) restricción termodinámica de la primera reducción univalente del O<sub>2</sub> para formar O<sub>2</sub><sup>-</sup>. En sistemas biológicos, sin embargo, estas restricciones pueden ser sobrepasadas ya sea por la interacción del O<sub>2</sub> con otros centros paramagnéticos con e desapareados (hierro, cobre), mediante la participación de enzimas que proveen de un microambiente adecuado para la interacción de los intermediarios, o ambos. De esta manera es posible que el O<sub>2</sub> sea reducido en procesos de transferencia de 1,2 e con producción de H<sub>2</sub>O, especies radicalarias (O<sub>2</sub><sup>-</sup> y HO<sup>•</sup>) y peróxidos (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Si bien es claro que la célula posee mecanismos de protección antioxidante de tipo químico y enzimático, un desbalance entre estos factores y la producción de agentes prooxidantes es capaz de desencadenar un estrés oxidativo que puede tener deletéreas consecuencias para ella (Sias, H., *Oxidative Stress*, Academic Press, 1985). Estudios de nuestro grupo han evidenciado tal desbalance asociado a la toxicidad de xenobióticos (etanol, lindano), alteraciones hormonales (hipertiroidismo), y bajo la influencia de la contaminación atmosférica particulada o de condiciones de isquemia/reperfusión de órganos (Financiado por D.T.I., U. de Chile (B-1860) y FONDECYT (8/1987)).

# Simposio

## REDUCCION DEL OXIGENO Y PRODUCCION DE ESTADOS EXCITADOS EN LA CELULA

Coordinador: *Luis Videla*

EFFECTO DE LA PRESION PARCIAL DE OXIGENO SOBRE LA ACTIVIDAD CITOCROMO OXIDASICA DE CELULAS TUMORALES. (Effect of oxygen partial pressure on cytochrome oxidase activity of tumor cells). Ferreira, J. y Reynafarje, B. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Johns Hopkins Medical School, Baltimore, USA.

La mayor parte de nuestro actual conocimiento sobre la respiración celular se deriva de experimentos realizados en condiciones de un ambiente de alta tensión de O<sub>2</sub>, en que la velocidad de respiración sigue una cinética de orden cero con respecto a la O<sub>2</sub>. Este diseño experimental no es necesariamente análogo a la situación fisiológica, donde el O<sub>2</sub> se equilibra a una P<sub>O2</sub> muy baja en el microambiente tisular y la O<sub>2</sub> intracelular no es uniforme, aún en condiciones de reposo. Se dispone de muy poca información del efecto de la O<sub>2</sub> sobre la velocidad de respiración celular dentro del rango de O<sub>2</sub> que existe en estas condiciones; además, se ha supuesto que la citocromo oxidasa está virtualmente saturada con O<sub>2</sub> en el tejido intacto.

Nuestros estudios realizados en células intactas, mitocondrias y mitoplastos de tumores ascíticos de Ehrlich y AS30-D, sometidas inicialmente a un ambiente anaeróbico y usando un electrodo de alta sensibilidad y velocidad de respuesta, sugieren que: 1) La velocidad de consumo de O<sub>2</sub> presenta 3 fases cinéticamente diferentes: una primera fase muy rápida, pero de corta duración; una fase posterior más lenta, de mayor duración y aparentemente lineal, y una tercera fase que precede al restablecimiento de la anaerobiosis. 2) La velocidad de consumo de O<sub>2</sub> y la duración de cada fase son dependientes de la O<sub>2</sub> y del estado redox de la citocromo oxidasa. 3) Para un mismo sustrato, cada fase presenta una estequiometría H<sup>+</sup>/O diferente. 4) No existe una correlación entre la velocidad de liberación de H<sup>+</sup> y la velocidad de transporte de electrones ni entre la velocidad de formación del potencial de membrana y la velocidad de expulsión de H<sup>+</sup>.

Financiado por Fogarty Fundation N°TW03573

PRODUCCION DE ESTADOS EXCITADOS EN SISTEMAS BIOLÓGICOS (Generation of excited states in biological systems). Lissi, E.A. Departamento de Química, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile.

La generación de estados excitados en sistemas biológicos está asociada tanto a procesos normales como patológicos. Estos estados excitados pueden ser producidos en procesos químicos y enzimáticos o por absorción directa de radiación. La producción de estos estados genera especies de alta reactividad que pueden ser usadas como mecanismos de defensa (fagocitosis), terapia selectiva (fototerapia de tumores), o, en situaciones no deseables, da origen a procesos de oxidación, inactivación de enzimas o ataque a DNA.

Un uso particular de procesos que producen especies electrónicamente excitadas es la lipoperoxidación. La producción de estas especies puede ser evaluada a través de la luminiscencia emitida por los sistemas biológicos. En este proceso se producen oxígeno singlete (caracterizado por su emisión I.R.) y especies que emiten en la región del visible (posiblemente carbonilos excitados). El mecanismo de formación de estos últimos compuestos todavía no ha sido aclarado, pero posiblemente involucra la ruptura de intermediarios del tipo dióxetano.

ACTIVIDAD PROLIFERATIVA DE LAS CELULAS TRANSFORMADAS. MEMBRANA PLASMÁTICA Y NÚCLEO COMO ORGANÉLOS BLANCO DE PROTEÍNAS TRANSFORMANTES (Proliferative activity of transformed cells. Plasma membrana and nucleus, targets for transforming proteins). Santos, M.; Carmona, M.T.; Arenas, C.P.; Ordóñez, G.E. Depto. Biol. Cel. y Genética, Facultad Medicina, Universidad de Chile.

La transformación celular, independientemente del agente transformante, parece ser el resultado de efectos complementarios en membrana plasmática y núcleo celular. La acción particular de proteínas transformantes o agentes químicos, en cada compartimiento subcelular determinaría las características proliferativas de las células transformadas.

La transformación celular inducida por el virus SV-40 depende de la funcionalidad del antígeno tumoral mayor (ag-T), que se localiza en el núcleo y membrana plasmática de las células transformadas por este virus. La presencia del ag-T en la superficie celular se correlaciona con una alta actividad proliferativa. Lo mismo ocurre con el patrón de distribución intranuclear del ag-T. Este es heterogéneo en las células de cultivos en activa proliferación y es homogéneo en cultivos con baja actividad proliferativa, en los que la síntesis de DNA está inhibida y en las células recién originadas en una mitosis. Estudios realizados con células transformadas por SV40 con mutaciones termostables confirman que tanto la presencia del ag-T en la superficie celular como la distribución del ag-T nuclear se correlacionan con la actividad proliferativa, siendo independiente del fenotipo transformado. Por lo tanto, el ag-T nuclear y de membrana plasmática parecen tener un rol en el control de la proliferación de las células transformadas por SV40 y la acción conjunta de ambos podría determinar la mantención de las mismas en continua proliferación.

Proyectos : Fondecyt Nos. 1137/85 y 447/87; D.I.B., Universidad de Chile B-2366.

## MENSAJEROS INTRACELULARES Y FUNCION CELULAR

Coordinador. *Enrique Jaimovich*

MODULACION DE PROTEINA KINASA C POR ACIL-COENZIMOS A. (Acyl-Coenzyme A modulation of protein kinase C). Bronfman, M., Morales, M.N., Hidalgo, P., Loyola, G., y Orellana, A. Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La activación de la vía de transducción de señales del fosfatidil inositol polifosfato por diversos agonistas, produce hidrólisis de estos fosfolípidos, generando inositol polifosfatos y un diglicérido (DAG). De los inositoles polifosfatos, el más estudiado es el inositol trifosfato, cuyo rol primario sería de estimular la salida de  $Ca^{++}$  desde sus reservas intracelulares. El DAG generado, es también un mensajero intracelular, cuya acción se lleva a efecto a través de una proteína quinasa dependiente de fosfolípidos y de  $Ca^{++}$ , la proteína quinasa C (pkC). El rol fisiológico de esta quinasa se hizo aparente al descubrirse que el DAG estimula su actividad al reducir su dependencia por  $Ca^{++}$  y fosfolípidos. Además de su rol en regulación celular, la pkC ha sido implicada en tumorigénesis al observarse que esta proteína es el receptor de los ésteres de forból, reconocidos promotores de cancerinogénesis.

Aparte del DAG, nada se sabe acerca de otros posibles factores regulatorios endógenos de la actividad de pkC. Recientes resultados de nuestro laboratorio muestran que concentraciones fisiológicas de acil-Coenzimos A de ácidos grasos de cadena larga y media son capaces de modular la actividad de pkC *in vitro*. En esta presentación, se discutirán las características de esta modulación así como las implicaciones del fenómeno en el efecto tumorigénico de drogas capaces de formar acil-Coenzimos A no naturales *in vivo*.

(Financiado por DIUC 82/86)

REGULACION DEL METABOLISMO DE FOSFOLIPIDOS EN CELULAS DE GLOMERULOSA ADRENAL DURANTE LA ACCION DE ANGIOTENSINA II (AII) Y ACTH. (Regulation of phospholipid metabolism in adrenal glomerular cells during the action of angiotensin II and ACTH). Foster, R., Oberhauser, E., Thielmann, L. y Farese, R. Departamentos de Fisiología y Biofísica y Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y University of South Florida College of Medicine. La hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5 bisfosfato (PIP<sub>2</sub>) mediada por la enzima fosfolipasa C, generando inositoltrisfosfato (IP<sub>3</sub>) y diacilglicerol (DAG) parece ser la etapa inicial que acopla al receptor activado con la secuencia de eventos que controlan la síntesis de aldosterona. La evidencia experimental disponible sugiere que la acción de AII está temporalmente integrada por dos ramas del sistema mensajero-Ca: la rama Ca-calmodulina y la rama proteína-quinasa C. Este modelo propone que IP<sub>3</sub> moviliza Ca de reservorios no mitocondriales, iniciando la respuesta secretiva, proceso que es independiente de Ca externo y la activación de la proteínaquinasa C por DAG da cuenta de la fase sostenida durante la acción hormonal. Presentaremos evidencia experimental que 1) Se requiere de Ca externo para la formación de IP<sub>3</sub>, DAG y secreción de aldosterona. A concentraciones de 0,1  $\mu$ M o menos AII no produce aumento en IP<sub>3</sub> y elevando la concentración de Ca externo a 50  $\mu$ M o más, la respuesta es totalmente recuperada y 2) Tanto AII como ACTH, la que no tiene efecto en la formación de polifosfoinositoles estimulan la síntesis de novo de diacilglicerol sugiriendo la presencia de un mecanismo bajo control hormonal aun no considerado.

TRANSDUCCION DE SEÑALES EN EL OOCITO DE ANFIBIO. (Signal transduction in the amphibian oocyte.) Connelly, C., Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La inducción de la maduración meiótica de los oocitos de anfibio es un complejo proceso en que la membrana celular transduce señales hormonales externas generando segundos mensajeros que afectan diversos procesos metabólicos. En nuestro laboratorio se ha estudiado en profundidad la regulación de los niveles intracelulares de cAMP por medio de la adenilil ciclasa y las fosfodiesterasas de nucleótidos cíclicos. Mas recientemente hemos iniciado un estudio sobre algunas de las enzimas que participan en el metabolismo de los fosfatidilinositoles. Se ha estudiado y caracterizado la actividad de la fosfatidilinositol quinasa de estas células, observándose una notoria activación por poliaminas y polilisina y una inhibición por 2,3 difosfatoglicerato y por heparina. Las poliaminas y polilisina también afectan la actividad de proteínas quinasas presentes en las membranas. Estas enzimas pueden ser solubilizadas manteniendo su sensibilidad a la estimulación por polilisina.

La proteína codificada por el oncogen de Kirstein-ras contiene una secuencia rica en lisinas en su terminal carboxílico. La microinyección de proteína ras produce maduración meiótica de los oocitos por medio de un mecanismo aparentemente diferente al de la inducción gatillada por progesterona.

[Trabajo apoyado por el DIB, Universidad de Chile, FONDECYT, y The Council for Tobacco Research.]

POSIBLE PARTICIPACION DE INOSITOL TRIFOSFATO EN ACOPLAMIENTO EXCITACION CONTRACCION (Possible rol of inositol trisphosphata in excitation-contraction coupling). C. Hidalgo, M.A. Carrasco, C. Rojas y E. Jaimovich. Centro de Estudios Científicos de Santiago y Depto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, U. de Chile, Santiago, Chile.

Un requisito para postular un rol del inositol trifosfato (IP<sub>3</sub>) como un mensajero químico en el acoplamiento excitación-contracción en músculo esquelético es la presencia, en la membrana de los túbulos transversales (T-T), de las quinasas que forman fosfatidilinositol 4-fosfato (PIP) y fosfatidilinositol 4,5 bifosfato (PIP<sub>2</sub>), que son los precursores del IP<sub>3</sub>. Hemos encontrado que membranas de T-T, purificadas de músculo esquelético de anfibio, tienen las quinasas que forman PIP y PIP<sub>2</sub> (Km para ATP = 0,1  $\mu$ M). Las cantidades de PIP<sub>2</sub> formadas son suficientes para producir niveles de IP<sub>3</sub> de hasta 10 $\mu$ M en el espacio de la triada (suponiendo 100% hidrólisis). Ambas quinasas son reguladas por calcio en el rango fisiológico; al subir la concentración de calcio de 10<sup>-7</sup>M a 10<sup>-5</sup>M se observa un aumento de 4 veces en la síntesis de PIP<sub>2</sub>, y un 50% de disminución en PIP.

En paralelo, mediciones directas del efecto de IP<sub>3</sub> sobre la liberación de calcio en fibras de músculo esquelético de anfibio, permeabilizadas en forma mecánica, indican que este compuesto produce liberación rápida de calcio.

En conjunto, estos resultados apoyan la hipótesis que IP<sub>3</sub> podría ser el mensajero químico responsable del proceso de acoplamiento excitación-contracción en músculo esquelético.

Financiado por NIH Grants HL 23007 GM 35981 MDA, DIB 2149 y 2193, FONDECYT Y the Tinker Foundation Inc.

EL IÓN CALCIO COMO MENSAJERO INTRACELULAR: UNA VISION INTEGRATIVA DE LA HOMEOSTASIS CELULAR. (The calcium messenger system: An integral view of cellular homeostasis). Marusic, E.I. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los diversos aspectos involucrados en la función del ión Ca como mensajero intracelular han demostrado ser más complejos que el sistema del AMP cíclico tanto por la forma de transducción de los cambios de concentración de Ca que son más variadas que la del AMPc, como por su metabolismo celular. El propósito de esta presentación es desarrollar un esquema de operación del sistema mensajero de Ca, basado en datos propios y de la literatura. Particular énfasis se pondrá en el metabolismo celular del Ca, utilizando como modelo experimental las células aisladas de la zona glomerulosa de la glándula adrenal de bovino. Estas células son especialmente sensibles al ión Ca como mensajero intracelular, dado que su principal agonista, la angiotensina II, no estimula la adenil ciclase, pero sí activa la fosfolipasa C y las enzimas reguladas por Ca. La angiotensina II regula la secreción de aldosterona de las células de glomerulosa por mecanismos dependiente de Ca, en el que participan el Ca proveniente del espacio extracelular y el liberado de depósitos intracelulares por acción del IP<sub>3</sub>. Si se activa la entrada de Ca con el ionóforo A23187 se obtiene un aumento parcial de la esteroidogénesis, probablemente vía activación de calmodulina. Si se emplean bloqueadores de canales de Ca dependiente de voltaje la respuesta secretoragoga es menor en presencia de angiotensina II. Estudios recientes de Lobo y Marusic han demostrado que la angiotensina II depolariza las células de glomerulosa por un mecanismo no conocido que produce una disminución de la permeabilidad al potasio. Sin embargo, a pesar de existir un aumento en la entrada de Ca voltage-dependiente, el calcio total celular disminuye significativamente durante la acción de angiotensina sugiriendo una activa participación de los mecanismos de salida de Ca, los que comprenden al intercambiador Na/Ca y la Ca-ATPase. Estos mecanismos son de especial importancia para la supervivencia celular tomando en cuenta la realidad que enfrentan las células de existir en un medio hostil -rico en calcio- y por lo tanto en el continuo peligro de la intoxicación celular por este ión, el que no obstante tiene un importante rol en el acoplamiento estímulo-respuesta.

ACTIVACION DEL CICLO DEL FOSFATIDILINOSITOL EN MEDULA RENAL DE RATA POR AGONISTA V<sub>2</sub> DE LA VASOPRESINA. (Phosphatidylinositol cycle activation by V<sub>2</sub> agonist of vasopressin in rat kidney medulla). Oberhauser E, Thielemann L, Foster R, Silva P. Departamento de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Ch. A. Dana Research Institute, Harvard Thorndike Laboratory, Beth Israel Hospital.

La vasopresina (VP) actúa en el túbulo colector aumentando la permeabilidad al agua, y en asa ascendente de Henle incrementando la reabsorción de Cl<sup>-</sup>, generando AMPc a través de receptores V<sub>2</sub>. En células intersticiales medulares activa el ciclo del fosfatidilinositol estimulando la fosfolipasa C, por receptores V<sub>1</sub>, acoplado a la respuesta mediada por Ca<sup>2+</sup> en la producción de prostaglandina E<sub>2</sub>. El Li<sup>+</sup>, que depleta los fosfatidilinositoles al bloquear la D-yL-inositol-1-fosfatidil-transferasa, y los aminoglicósidos, que inactivan la fosfolipasa C, in-sensibilizan al túbulo colector al efecto hidrosmótico de la VP. Esto, y la dependencia de Ca<sup>2+</sup> de la acción de agonistas V<sub>2</sub>, permite pensar que éstos puedan modificar el ciclo del fosfatidilinositol. Homogenizados de médula renal de rata incubados con ortofosfato-P<sub>32</sub> muestran rápida incorporación del P<sub>32</sub> principalmente en ácido fosfático (PA) 50%, fosfatidilinositol-4-monofosfato (PIP) 5-10%, fosfatidil-4,5-bisfosfato (PIP<sub>2</sub>) 10-20%, y, más lentamente, en fosfatidilinositol (PI) menos de 5%. La adición de idesamino-D-arginina-8-vasopresina, agonista V<sub>2</sub> predominante, (35-75 nM) aumentó rápidamente, relativo a controles, la incorporación de P<sub>32</sub> en PA de 2 a 5 veces, en PIP y PIP<sub>2</sub> de 1.5 a 2 veces, y en 1 a 3 horas acentuadamente en PI: más de 10 veces.

ACOPLAMIENTO EXCITACION-CONTRACCION EN MUSCULO DE CRUSTACEO. (E-C coupling in crustacean muscle). Nassar, V., Rojas, E., Carrasco, M.A. y Luxoro, M. Lab. Fisiol. Cel., Univ. de Chile y Lab. Cell. Biol., NIADDK, NIH, USA.

A diferencia del músculo esquelético, el de crustáceo requiere de la entrada de Ca<sup>2+</sup> para contraerse. El Ca<sup>2+</sup> que entra no actúa, en su mayor parte, directamente en la troponina, ya que 2mM tetracaina inhibe la contracción de fibras musculares enteras y no la afecta en fibras rasgadas, en donde una solución de Ca<sup>2+</sup> con pCa 5.2 puede actuar directamente. Experimentos electrofisiológicos demuestran que este efecto inhibitorio tampoco está en la membrana.

Siguiendo a Vergara y col. y a Volpe et al. hemos demostrado que aplicaciones intracelulares de IP<sub>3</sub> (0.2 - 8 nmol) inducen tensiones fisiológicas (máx. 1.6 kg/cm<sup>2</sup>). Además, con accure ring demostramos que esas dosis de IP<sub>3</sub> liberan Ca<sup>2+</sup> de depósitos sarcoplasmáticos compatible con las tensiones generadas. Con inositol tritizado hemos demostrado la presencia del sistema que genera IP<sub>3</sub> (PI, PIP y PIP<sub>2</sub>). En presencia de tetracaina se acumula PI y PIP, lo que sugiere inhibición de la síntesis de IP<sub>3</sub>. Consecuentemente, fibras musculares enteras bloqueadas por tetracaina responden 100% a la estimulación por IP<sub>3</sub>. Datos preliminares muestran que la formación de IP<sub>3</sub> se dobla al elevar el Ca<sup>2+</sup> de pCa 7 a pCa 6.

Lo anterior es compatible con la hipótesis de que el Ca<sup>2+</sup> que entra activa la fosfodiesterasa que hidroliza el PIP<sub>2</sub>, generando IP<sub>3</sub>. No se excluye la participación de otros mecanismos (Ca<sup>2+</sup> libera Ca<sup>2+</sup> y acción directa).

LACTOGENESIS Y NUCLEOTIDOS CICLICOS (Lactogenesis and Cyclic Nucleotides).

Sapag-Hagar, M. Depto. de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La acción opuesta del AMP cíclico (cAMP) y del GMP cíclico (cGMP) en la glándula mamaria contribuye a modular el balance entre proliferación y diferenciación celular así como la lactogénesis. El nivel alto del cAMP antes del parto constituye un regulador negativo para la biosíntesis y secreción de los componentes de la leche, las que se estimularían con la caída del cAMP después del parto. Contribuye a ello la activación de la cAMP-fosfodiesterasa (PD), por el elevado nivel de calmodulina-Ca en la lactancia, al aumentar la eficiencia catalítica (V<sub>máx.</sub>/K<sub>m</sub>) de la enzima para el cAMP y disminuirla para el cGMP. La PD actuaría como un "tampón" del cAMP intracelular en la lactancia, impidiendo el aumento de este represor evocado por agentes adrenérgicos u otros.

Las células epiteliales secretoras mamarias presentan receptores β-adrenérgicos, funcionalmente acoplados mediante una proteína Gs estimuladora a la adenilato ciclasa, los cuales son heterológicamente regulados por hormonas. Así, su capacidad de producir cAMP con diferentes efectores (isoproterenol, toxina del cólera, fluoruro, forskolin) disminuye significativamente en el hipotiroidismo experimental mientras que la hidrocortisona potencia, tanto "in vivo" como "in vitro", la producción de cAMP a nivel basal, favoreciendo la formación o el acoplamiento de un complejo de alta afinidad.

También el factor de crecimiento epidérmico (EGF) participaría en la regulación de la producción de cAMP, pues la si aloadenectomía pregestacional hace disminuir la capacidad de respuesta β-adrenérgica en cerca de un 70%.

(Proyecto DIB B 2116 - 8733)

MODULACION DE CANALES IONICOS EN LA CELULA CROMAFINA DE BOVINO. (Modulation of ion channels in the bovine chromaffin cell). Stutzin, A., Pollard, H. B. y Rojas, E. Depto. de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, U. de Chile y Laboratory of Cell Biology and Genetics, NIDDK, NIH, Bethesda, MD. USA.

A pesar de un significativo número de trabajos realizados en el campo de la secreción celular, se desconoce en gran parte el rol de los canales iónicos en la regulación y modulación de este proceso.

Es un hecho establecido que las células cromafines de bovino secretan catecolaminas en respuesta a la estimulación con acetilcolina. Nicotina, pero no muscarina es también capaz de inducir secreción. Sin embargo, la atropina, un inhibidor de los receptores muscarínicos, reduce la secreción inducida por acetilcolina. El objetivo de este trabajo fue investigar posibles cambios en la actividad de los canales iónicos en la membrana de la célula cromafín en respuesta a la activación de los receptores muscarínicos.

Usando la técnica de registro de canal único se identificó una conductancia de potasio con las características de un rectificador anómalo de 178 pS en condiciones fisiológicas. La muscarina (1-10  $\mu$ M) aumentó la probabilidad de apertura del canal a cada voltaje. Los histogramas de tiempo abierto pudieron ser ajustados con una función biexponencial, lo que implica la existencia de al menos dos estados abiertos. La muscarina prolongó solamente la constante de tiempo más lenta, siendo su efecto bloqueado específicamente por pirenzepina, un bloqueador del receptor muscarínico M1, pero no por galamina, un bloqueador del receptor M2. Por lo tanto, muscarina puede potenciar pero no inducir la secreción de catecolaminas gatillada por acetilcolina en células cromafines de bovino.

REGULACION DE CANALES IONICOS POR INOSITOL(1,4,5)-TRISFOSFATO Y SU ROL EN EL ACOPLAMIENTO EXCITACION CONTRACCION. (Regulation of ion channels by InsP3 and their role in EC coupling). Benjamín Suárez. Centro de Estudios Científicos de Santiago y Depto. Fisiología y Biofísica, Fac. Medicina, U. de Chile.

El mecanismo de acoplamiento que transduce la despolarización de los túbulos transversales (TT) en liberación de calcio desde el retículo sarcoplasmático (RS) es una pregunta crucial de la fisiología muscular aún no resuelta. Vergara y cols. (1) han propuesto que inositol (1,4,5)-trisfosfato (InsP3), sería el agonista interno liberado desde el sistema TT en músculo esquelético que actuaría a nivel de la tríada activando la salida de Ca desde el RS. Recientemente, se ha demostrado que InsP3 produce contracturas en fibras musculares, activa la liberación de Ca desde vesículas aisladas de RS y su concentración aumenta por estimulación eléctrica. Además, es un hecho establecido que InsP3 activa la movilización de calcio desde organelos intracelulares en varios procesos celulares (2).

En este trabajo se discuten las propiedades y el rol posible de canales de calcio activados por InsP3 incorporados en bicapas planas de fosfolípidos desde vesículas aisladas de RS de rana y conejo altamente purificadas. Un tipo de canal de calcio de alta conductancia (112 pS con 50 mM Ca trans) es activado por concentraciones micromolares de InsP3. La activación se expresó como un aumento dependiente de la concentración del tiempo fraccional abierto del canal (Po) sin modificación de la conductancia de canal único. Estos resultados apoyan el rol propuesto de InsP3 como agonista interno de la liberación de calcio del RS.

(1) Vergara y cols. PNAS 82, 6352 (1986).

(2) Berridge & Irvine, Nature 312, 315 (1984).

Financiado por Proyecto FONDECYT 598, NIH Grant GM35981, MDA Grant, DIB 2123.

# Simposio

## ACUACULTURA EN CHILE.

Coordinador: *Julio Vásquez*

### El Cultivo de Peces en Chile (The fish culture in Chile)

Silvo, A.

Departamento de Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar Universidad del Norte, Sede Coquimbo.

Se hace una breve reseña histórica que considera los inicios de la piscicultura en Chile, sus objetivos primarios su desarrollo y su extensión en el país.

Se entrega a continuación una visión sobre el estado actual de la piscicultura la cual está basado exclusivamente en el cultivo de especies salmonídeas dado el alto valor que esta especie alcanza en el mercado internacional.

Se exponen algunos antecedentes tecnológicos sobre los piscicultura que actualmente operan además de resultados y perspectivas de los proyectos desarrollados o en desarrollo con otras especies potencialmente interesantes.

Se llama la atención sobre los riesgos de dependencia y otros que actualmente sufre la principal actividad de cultivo de peces desarrollado en el país.

Se enfatiza la necesidad de fomentar la actividad de piscicultura mediante la acción mancomunada de Gobierno, Universidades y Privados, tendiente a enfocar la atención a mediano plazo en aquellos especies autóctonas potencialmente cultivables y atractivos al mercado externo e interno.

**CAPTACION MASIVA DE SEMILLA DE OSTION DEL NORTE**  
*Argopecten purpuratus*, LAMARCK, 1819 EN AMBIENTE NATURAL EN BAHIA TONGOY, IV REGION, CHILE (Capture of natural seed of the scallop *Argopecten purpuratus* in Tongoy Bay, Region IV, Chile). Pereira, L., Illanes, J. y Akaboshi, S. Departamento de Acuicultura, Facultad Ciencias del Mar, Universidad del Norte, Sede Coquimbo.

El ostión del norte (*Argopecten purpuratus*) se encuentra a lo largo de la costa chilena entre Arica y Valparaíso a una profundidad que varía de 1 a 40 mts. en fondos de arena, grava y conchilla. Preferentemente su distribución se restringe a bahías protegidas.

Las técnicas de cultivo del ostión del norte se basan en la tecnología empleada para el ostión japonés (*Pinctopecten yessoensis*), siendo Japón actualmente líder mundial de producción de ostiones.

Para desarrollar en Chile esta actividad productiva, es necesario investigar y promover las siembras de semillas con el propósito de mantención, recuperación o creación de bancos naturales, además de investigar las diferentes etapas del cultivo. La semilla puede ser obtenida a través de colectores artificiales colocados en el mar o producidos en los hatcheries. La Universidad del Norte ha intentado con éxito el desarrollo de estas líneas de producción.

La captación de semilla de ostión del norte en el ambiente natural en Bahía Tongoy se lleva a cabo de 1981. Realizándose estudios básicos que permitieron determinar períodos de desove, requerimientos de fijación, presencia y comportamiento post-larval, fecha de instalación y cosecha de colectores y traslado de semillas a cultivo intermedio y posteriormente a cultivo final.

**CULTIVO DE MOLUSCOS.** (Mollusks Culture). ILLANES, J.E Departamento de Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad del Norte, Sede Coquimbo

Para muchas personas, el cultivo de moluscos representa un concepto novedoso, sin embargo, el cultivo de ostras ya se practicaba en Japón en el año 2000 AC y por los romanos en el año 100 AC. Con tan largo historial, se podría suponer que la tecnología en cultivo de moluscos se encuentra avanzada, pero no es así, aún queda por hacer para lograr que los cultivos marinos alcancen el sitio que les corresponde en la producción de alimento para el consumo de la humanidad.

El éxito de los cultivos de moluscos en la actualidad, se encuentra restringido a los estuarios y a la línea costera, descartándose las aguas profundas oceánicas. De esta forma, las técnicas conocidas de acuicultura se limitan a una pequeña franja del inmenso potencial que representan los océanos.

Los niveles de producción alcanzados con la tecnología de cultivo de moluscos es altamente variable y depende de la especie utilizada y de la productividad primaria de las aguas. De este modo, los mayores rendimientos se consiguen con animales herbívoros, como los moluscos bivalvos. Cultivos de ostras y chorritos, por ejemplo, han producido desde 4 a 240 toneladas de moluscos por hectárea, dependiendo de la tecnología empleada.

En Chile, los cultivos de moluscos se inician en la década del 40 en la zona de Chiloé, en establecimientos estatales. Posteriormente éstos establecimientos fueron traspasados a particulares, pero debido principalmente a problemas de mercado para las especies involucradas, la actividad decayó. En la actualidad, los cultivos de moluscos han renacido, especialmente en la zona norte, donde se trabaja con especies de alto interés comercial.

**CULTIVO DE CRUSTACEOS.** (Crustacean Culture). Meruane J. Departamento de Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad del Norte, Sede Coquimbo.

El cultivo de crustáceos es una actividad ampliamente difundida en diversos países del mundo, especialmente en aquellos de climas tropicales y templados. Sin duda alguna, los camarones son los que marchan a la vanguardia y varias son las especies que actualmente están siendo sometidas a explotación. Entre las principales familias están los penéidos y palaemónidos que corresponden a camarones marinos y de agua dulce respectivamente. De los penéidos cultivados los más importantes son: *Penaeus japonicus*, *P. vannamei*, *P. stylirostris*, *P. monodon*, *P. merguensis*, *P. californiensis*, etc., y de la familia de los palaemónidos, *Macrobrachium rosenbergii*, el "camarón gigante de Asia" que es intensamente cultivado en diferentes lugares del mundo con resultados económicamente ventajosos.

Seguramente entre los crustáceos las más conocidas y más altamente estimadas sean las "langostas" (*Homarus spp.*, *Jasus spp.*, *Panulirus spp.*) y esfuerzos para cultivarlas, especialmente en USA y Europa han sido hechos desde 1860.

A pesar de que las langostas siguen siendo delicades en todo el mundo, éstas se han encontrado con su contraparte de agua dulce (Crayfishes) que pertenecen a la familia Astacidae y que comprenden a más de 300 especies distribuidas en todo el mundo con la sola excepción de África. Los más entusiastas consumidores de las "langostas de agua dulce" son probablemente los franceses y granjas de éstas han estado en operación desde 1880.

Aunque casi todas las más grandes especies de jaibas (Braquiuros) son comestibles, las que habitualmente, se encuentran en el comercio son miembros de tres familias: Portunidae, Xanthidae y Cancridae. En años recientes la sobrepesca de jaibas ha motivado la creación de algunos Centros para el cultivo de estas especies.

CULTIVO MASIVO DE MOLUSCOS BASADO EN HATCHERY.  
(Hatchery based mass molluscan culture). DiSalvo  
L.H. Depto. de Acuicultura, Facultad de Ciencias  
del Mar, Universidad del Norte, Sede Coquimbo.

La manipulación artificial de los ciclos de vida de moluscos de alto valor comercial, en sistemas de "hatchery", tiene gran interés para el desarrollo futuro de cultivos marinos. La mantención de una alta tasa de sobrevivencia de millares de propagúlos reproductivos en el laboratorio, seguida por una producción masiva de adultos en el mar ha sido un triunfo del método científico. A pesar de la magnitud de este triunfo, su aplicación práctica depende de factores biológicos, medios ambientales y socioeconómicos. Las condiciones que en Chile favorecen este desarrollo incluyen, alta productividad primaria, aguas libres de contaminación y un costo laboral favorable. En la actualidad se producen millones de semillas de Ostra del Pacífico (Crassostrea gigas) en condiciones controladas.

A medida que se reúnen suficientes datos básicos, es muy probable que especies nativas como Argopecten purpuratus y Tiostrea chilena alcancen niveles de producción semejantes al de la Ostra del pacífico.

## INJURIA TISULAR E INFLAMACION, ACCION DE ANTAGONISTAS Y ANTIINFLAMATORIOS

Coordinador: *Norma Martin*

**LOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES EN EL CONTROL DEL DOLOR POSTOPERATORIO EN ODONTOLOGIA.** (Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the control of postoperative pain in Dentistry). Dr. Fernando Gallardo R. Facultad de Medicina, Dept. de Farmacología, Universidad de Chile.

El dolor postoperatorio, consecutivo a intervenciones quirúrgicas en la cavidad bucal es uno de los modelos más utilizados para determinar la actividad analgésica de diversos medicamentos en clínica. Entre las ventajas que presenta el modelo mencionado se incluyen: 1) Es una intervención muy común, que se efectúa en individuos jóvenes, ambulatorios. 2) Los pacientes habitualmente no se encuentran bajo tratamiento médico con otros medicamentos. 3) Se precisa de un corto período de tiempo para obtener una muestra significativa de pacientes. 4) El modelo ha demostrado su sensibilidad en muchos trabajos efectuados.

Utilizando el modelo descrito, se presentarán diversos resultados obtenidos con el uso de antiinflamatorios no esteroideos (derivados propiónicos, fenamatos) en pacientes odontológicos con dolor postoperatorio consecutivo a la cirugía periodontal (cirugía mucogingival) o cirugía oral (exodoncia de piezas dentarias incluidas).

**INCREMENTO DEL DAÑO INFLAMATORIO INICIAL POR MEDIADORES ENDOGENOS.** (Increase of initial inflammatory damage by endogenous mediators) Mancinelli, S., de la Fuente, G., Germany, A., Pinto, N., Marchant, J. y Acuña, J. Dpto de Cs. Fisiol. Fac. Cs. Biol. y Rec. Nat. U. de Concepción.

La acción de una injuria sobre un tejido puede inducir una respuesta inflamatoria que tiende a intensificarse en las primeras 48 hrs. de evolución. Esta forma de desarrollo, se comprende fácilmente si la acción de la noxa persiste, como sucede en las infecciones; sin embargo, lo mismo se observa en casos de injurias de corta duración como traumatismos y quemaduras. Esto último nos permite reconocer que en el proceso inflamatorio participan mediadores endógenos, cuyo efecto se suma al daño tisular inicial o primario.

Ejemplos de injuria secundaria son frecuentes, es especial cuando en el proceso inflamatorio se producen posteriormente zonas de isquemia transitoria, con liberación de radicales libres derivados del oxígeno, vía xantina oxidasa. El uso preventivo de alopurinol, al bloquear dicha enzima disminuye significativamente el edema post-quirúrgico. Resultados similares se obtienen en casos de quemaduras experimentales pequeñas, donde el alopurinol también atenúa el daño tisular adicional o secundario.

Los mecanismos fisiopatológicos que determinan la isquemia transitoria pueden ser diferentes, así por ejemplo la compresión vascular por exudado juega un rol fundamental en casos de edema traumático, en tanto que en la quemadura, los cambios intravasculares parecen ser más importantes en la formación de radicales libres. Proyecto 21.11.05 Dir. Invest. U. de C.

**ROL DE LAS PROSTAGLANDINAS Y LOS LEUCOTRIENOS EN EL PROCESO INFLAMATORIO.** (Role of prostaglandins and leukotrienes in the inflammatory process). M. Guivernau. Depto. Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las prostaglandinas (PG) que se sintetizan a partir del ácido araquidónico liberado desde los fosfolípidos de la membrana celular por acción de la fosfolipasa A<sub>2</sub>, desempeñan un rol clave en la inflamación, puesto que no sólo actúan como mediadores en la etapa tardía de la fase vascular del proceso inflamatorio, sino que también como moduladores de las acciones producidas por los otros mediadores. En efecto, la PGE<sub>2</sub> y la PGI<sub>2</sub> o prostaciclina, además de aumentar la permeabilidad vascular e inducir edema y dolor por sí mismas, también potencian el edema producido por la histamina y serotonina y sensibilizan los receptores nociceptivos a la acción hiperalérgica de la bradicinina. El leucotrieno B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>), otro derivado del ácido araquidónico, constituye el más potente agente quimiotáctico endógeno, siendo responsable en parte de la migración y acumulación de leucocitos polimorfonucleares en el sitio inflamado observado en la fase celular. El LTB<sub>4</sub> también aumenta la permeabilidad vascular, constituyendo de esta forma el primer mediador inflamatorio capaz de participar tanto en la fase vascular como en la celular de la inflamación. Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos deben en parte sus acciones antiinflamatoria, analgésica y antipirética a la capacidad que tienen de bloquear la enzima ciclooxigenasa responsable de la síntesis de prostaglandinas. Algunas de las reacciones adversas producidas por estos fármacos también se relacionan con este último efecto: la inhibición de la agregación plaquetaria se debe al bloqueo de la síntesis de tromboxano A<sub>2</sub> en las plaquetas; la irritación gástrica producida por algunos de ellos se debe a la inhibición de PG citoprotectoras en la mucosa gástrica; la nefritis analgésica producida por otros se debe a la inhibición de PG renales (PGI<sub>2</sub>), responsables de mantener el flujo sanguíneo a ese nivel.

**MENSAJEROS QUIMICOS Y MODULADORES DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA** (Chemical messengers and modulators of inflammatory response). N. Martín. Depto. Ciencias Fisiológicas. Fac. Cs. Biol. y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción.

El gran número de mediadores liberados, factores activados y elementos celulares movilizados, son hechos conocidos y de creciente complejidad en el proceso inflamatorio agudo.

Evidencias experimentales señalan la existencia de diversos mecanismos moduladores de la respuesta inflamatoria. En efecto, en el edema inducido por carragenina en la rata, la liberación de catecolaminas desde las glándulas suprarrenales por el stress inflamatorio, reduce paralelamente los niveles de histamina y serotonina (5-HT), no sólo en el sitio de la noxa, sino en el peritoneo. Este efecto inhibitorio puede ejercerse parcialmente a través de receptores beta adrenérgicos, presentes en los mastocitos, con activación de la adenilato ciclasa. Otros agonistas endógenos de esta enzima, que pueden estar presentes en el proceso inflamatorio, como la adenosina y la PGE<sub>2</sub>, que incrementan los niveles del AMP cíclico, son capaces de inhibir la liberación de histamina y regular los mecanismos inflamatorios dependientes de los basófilos. Por otra parte, la misma histamina, puede reducir la liberación de enzimas lisosomales desde los granulocitos, efecto que corre paralelo con la activación de receptores H<sub>2</sub> y el incremento de AMP cíclico (Busse y Sosman).

Recientemente hemos establecido que la naloxona en dosis bajas, 100 y 200 ug in situ, es capaz de reducir el edema y la hiperalgesia inducida por carragenina, mientras a dosis mayores y por vía sistémica, estos efectos difieren significativamente. Estas y otras observaciones nos han llevado a proponer la presencia de receptores opiáceos periféricos capaces de ser activados por encefalinas endógenas, liberadas en el proceso inflamatorio.

Proyecto 20.33.20. Dirección de Investigación. Universidad de Concepción.

RADICALES LIBRES DERIVADOS DEL OXIGENO E INJURIA TISULAR (Oxygen-derived free radicals and tissue injury). Ward, P. H., Moreno, M., Gunther, B., y Vivaldi, E. Depto. de Ciencias Fisiológicas. Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción.

Múltiples y variados agentes injuriantes determinan a nivel tisular procesos patológicos fundamentales (PPF) tales como: inflamación, infección, tumores y necrosis. Todos estos procesos al injuriar a las células dan origen a manifestaciones generales (fiebre, leucocitosis y alteraciones enzimáticas). El diagnóstico diferencial de los PPF se sustenta en el examen clínico y en la especificidad de las alteraciones locales (biopsia).

El proceso inflamatorio, tanto en la respuesta aguda como crónica, se caracteriza por alteraciones vasculares y celulares. En la respuesta aguda adquieren especial significancia el aumento de la permeabilidad vascular y los procesos de fagocitosis; la crónica se caracteriza por la proliferación del tejido conectivo, el acúmulo de leucocitos mononucleares, y la respuesta inmune.

Los oxidantes derivados del oxígeno (radical superóxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo, ión hipoclorito y oxígeno singlete) han adquirido gran relevancia en la patogenia de procesos consecuentes a: isquemia quemadura, inflamación, endotoxemia, sepsis, hemorragia, y alteraciones vasculares conducentes a aterosclerosis. Estos agentes se generan principalmente por dos mecanismos: 1) por leucocitos activados en el foco inflamatorio (oxygen burst), y 2) durante la reperfusión de órganos sometidos previamente a isquemia. En esta última situación se genera xantino oxidasa a partir de la xantino dehidrogenasa durante el periodo de isquemia.

Ultimamente se ha concedido especial importancia a la interrelación entre los eventos consecuentes a isquemia-reperfusión y el proceso inflamatorio y a las alteraciones vasculares del proceso inflamatorio relacionadas con la persistencia de la isquemia tisular.

Proyecto FONDECYT N°0059/1987.

## NEUROPEPTIDOS

Coordinador: Sergio Mora

INTERACCIONES FUNCIONALES ENTRE SISTEMAS NEURONALES AMINOACIDICOS DE TIPO EXCITATORIO Y NEURONAS PEPTIDERGICAS EN SNC DE MAMIFEROS. (Functional interactions between excitatory amino acid- and neuropeptide-containing neuronal systems in the brain). Bustos, G. Laboratorio de Farmacología-Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago.

Estudios realizados los últimos 8 años, coinciden en el sentido de que aminoácidos, como el glutamato (GLU) y aspartato (ASP), constituyen los principales neurotransmisores (NT) químicos a nivel de sinapsis excitatorias en el SNC de mamíferos. El GLU y ASP ejercen su función NT al actuar, sobre 3 subtipos de receptores, clasificados como receptor a quisqualato (Q), kainato (K) y N-metil-D-aspartato (NMDA). Los receptores Q y K median des polarizaciones rápidas inducidas por influjo de Na<sup>+</sup>. La activación de receptores NMDA evocan respuestas a nivel post-sináptico solo en condiciones de despolarización neuronal, permitiendo influjos masivos de Na<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup>, y produciendo así una notable "amplificación" de la respuesta neuroexcitatoria, inducida previamente por receptores Q y K. Estos receptores juegan, aparentemente, una importante función en memoria y aprendizaje, epilepsia y desórdenes neurodegenerativos, en el cerebro.

Estudios neuroanatómicos realizados con metodología de unión de radioligandos a receptores, con marcadores pre sinápticos como el D-ASP-H<sup>3</sup> y con técnicas inmunológicas, han suministrado evidencia sobre la existencia en el SNC de discretos sistemas neuronales que almacenan y liberan aminoácidos excitatorios. Particularmente interesante es la existencia de sistemas cortico-corticales y cortico-fugales tanto en regiones límbicas como extrapiramidales del cerebro. Tal localización anatómica plantea la interesante posibilidad de que la expresión funcional de las vías aminoacídicas excitatorias esté modulada por interacciones químicas con numerosos neuropéptidos existentes en esas regiones cerebrales.

COLECISTOQUININA Y DOPAMINA COMO MODELO DE INTERACCIONES ENTRE NEURONAS PEPTIDERGICAS Y MONOAMINERGICAS EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL. (Cholecystokinin and dopamine as a model of interactions between peptidergic and monoaminergic neurons in the central nervous system). Gysling, K. y Sierralta, J. Lab. Farmacología Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La colecistoquinina (CCK) es un péptido muy abundante en el sistema nervioso central de mamíferos. La presencia de altas concentraciones de CCK en zonas ricas en dopamina (DA) como el núcleo accumbens y el cuerpo estriado ha despertado mucho interés por conocer las posibles interacciones funcionales entre estos dos sistemas neuronales.

Existen claras diferencias anatómicas en la distribución de CCK y DA en los núcleos mencionados. CCK y DA colocalizan en aproximadamente 70% de los terminales dopaminérgicos al núcleo accumbens posterior. Sin embargo, en la parte anterior del núcleo accumbens y en el cuerpo estriado estas dos sustancias neuroactivas se encuentran en distintos terminales. Esto sugiere la posibilidad de interacciones funcionales diferentes entre CCK y DA en los distintos núcleos.

Se discutirán las complejas y a veces controvertidas interacciones descritas a nivel de la liberación de CCK y DA en estas áreas y las posibles razones que podrían ayudar a explicar estas aparentes discrepancias.

Financiado por proyecto DIUC 203/86.

POLIPÉPTIDOS DE ACCIÓN DIURÉTICA NATRIURÉTICA.\* (Polipeptides of diuretic and natriuretic action) Concha, J. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales. Universidad de Concepción.

Se han descrito acciones de diferentes extractos de órganos que se caracterizan por producir diuresis y natriuresis y que se inactivan por agentes proteolíticos. Como ejemplos de tales extractos se consideran los obtenidos de hipotálamo, hígado, plasma sanguíneo, orina y los obtenidos de aurículas de mamíferos. El trabajo con estos últimos ha dado lugar a la separación de polipéptidos puros con notable acción diurética natriurética. Algunos de ellos ya han sido sintetizados y están a la venta con diferentes nombres como Atriopeptin I, II y III. Se ha descrito la acción de Atriopeptin III a nivel renal, vascular, intestinal, etc. Se ha afirmado que estos polipéptidos atriales no producen inhibición del transporte iónico en contraposición a sustancias derivadas del plasma, orina o hipotálamo que se caracterizan por bloquear la ATPasa Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> y a través de este mecanismo actuar como natriuréticos. El grupo de Fisiología ha separado una fracción de un extracto de aurícula de bovino que posee intensa acción diurética natriurética y que actúa inhibiendo el transporte iónico en piel de batracio y traquea de perro. Produce además relajación en arteria carótida contraída con noradrenalina y relajación en intestino de rata contraído con carbacol. Todos estos efectos son diferentes a los producidos por Atriopeptin III.

\* Proyecto 20.33.30. Dirección de Investigación. Universidad de Concepción.

EXPRESION GENICA DEL RECEPTOR DE ANGIOTENSINA II CEREBRAL. (Gene expression of brain angiotensin II receptor). Inestrosa, N.C., Kaltwasser, G. y Cross, D. Unidad de Neurobiología Molecular, Depto. Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile, Santiago.

El estudio de los receptores de angiotensina II (RAT) cerebrales es un paso importante en la comprensión de los elementos que median los efectos centrales del octapéptido angiotensina II. Entre estos efectos se destacan, la estimulación de centros nerviosos que controlan la sed, el apetito por la sal, la liberación de vasopresina y el aumento de la actividad simpática. Sin embargo y debido a la compleja organización y tamaño pequeño de las neuronas involucradas, la caracterización de los RAT ha sido difícil.

Por esta razón hemos decidido transplantar los RAT desde su sitio de origen (cerebro de rata) a una célula que permita su estudio farmacológico (el oocito de *Xenopus laevis*), mediante la microinyección de RNA mensajeros cerebrales. La expresión de los RAT se ha evaluado midiendo los cambios en el potencial de membrana de oocitos inyectados en presencia de concentraciones crecientes de Angiotensina II y su inhibición por saralasin y Sar<sup>1</sup>Leu<sup>8</sup>AT II.

Los RNA poli(A) que dirigen la expresión de los RAT presentan un tamaño aproximado de 4 kilobases, lo que permite sintetizar un receptor de 160.000 daltons.

Estamos iniciando el clonamiento de un cDNA del RAT en el vector pUC19 utilizando como ensayo la técnica de hibridización selectiva y la expresión del mRNA de 4 kb en oocitos.

Financiado por FONDECYT 706/87 y DIUC 77/86.

¿ES LHRH UN MODULADOR DE LA ACTIVIDAD DOPAMINERGICA EN EL CEREBRO DE LA RATA ? ( Is LHRH a modulator of brain dopaminergic activity in the rat ? ). Mora, S., Díaz-Véliz, G. y Belmar, J. Departamento Preclínicas, División Ciencias Médicas Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Laboratorio de Farmacología Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas Pontificia Universidad Católica de Chile.

El condicionamiento de avitación activa es considerado un modelo apropiado para evaluar la actividad de drogas que bloquean la transmisión dopaminérgica cerebral de la rata. A través de la aplicación de este modelo pretendemos demostrar que LHRH desempeña un rol modulador sobre la actividad de dicho neurotransmisor. Las evidencias son las siguientes:

1.- La inyección subcutánea o intracerebroventricular de LHRH inhibe la adquisición de respuestas condicionadas.

2.- El sitio más sensible a la acción de LHRH es el núcleo caudado, estructura rica en terminales dopaminérgicos.

3.- LHRH antagoniza los efectos de anfetamina.

4.- L-DOPA contrarresta los efectos de LHRH.

5.- Apomorfina antagoniza los efectos de LHRH, observándose una potenciación de los efectos de apomorfina en presencia del péptido.

6.- La inyección subcutánea de LHRH provoca una disminución en la síntesis y liberación de dopamina tritiada desde cortes de cuerpo estriado.

En consecuencia LHRH podría estar ejerciendo un rol como modulador de la actividad dopaminérgica cerebral, posiblemente a nivel estriatal.

Proyecto B- 1633-8644, DIB, Universidad de Chile.

RECEPTORES DE COLECISTOCININA (CCK) EN EL PANCREAS Y EN EL CEREBRO: ESTUDIO FARMACOLOGICO Y BIOQUIMICO EN RATON. Szecowka, J. Departamento de Ciencias Fisiológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago.

CCK es un péptido intestinal que, entre otras actividades, estimula la secreción de enzimas digestivas del páncreas. En el cerebro, CCK es un neuropéptido que posiblemente participa en la regulación del apetito.

Se investigó el ligamen de CCK en las membranas del páncreas exocrino y de la corteza cerebral. De 6 antagonistas usados, dbc-GMP mostró una marcada diferencia entre estos dos tejidos en su potencia para inhibir el ligamen de 125-I-CCK (páncreas cerebro). Este resultado farmacológico sugiere diferencias moleculares entre los receptores de CCK en el páncreas y en el cerebro.

En el páncreas, usando un reactivo bifuncional, 125-I-CCK fue unida covalentemente a su receptor. Electroforesis en condiciones reductoras y no-reductoras y autorradiografía indicaron que este receptor es una proteína compleja, formada por la subunidad de ligamen (80 kDa) y otra subunidad de función desconocida (40 kDa). El receptor solubilizado con 1% digitonina preservó sus características de ligamen en cuanto a cinética, pH óptimo, y afinidad relativa para agonistas (CCK-8 CCK-33

CCK-4) y antagonistas (dbc-GMP proglumida). Se purificó el receptor usando cromatografía de afinidad, primero con agarosa-RC-11 y luego con AffiGel15-CCK-8. La proteína purificada contiene subunidades de 80 kDa y 40 kDa y conserva sus características de ligamen.

En la corteza cerebral, 125-I-CCK fue unida covalentemente a su receptor. Resolución electroforética y autorradiografía indicaron, que en este tejido, el receptor de CCK es una proteína de peso molecular 55 kDa sin subunidades. Estos experimentos bioquímicos confirman las diferencias farmacológicas entre los receptores de CCK en el cerebro y en el páncreas. Sin embargo, la prueba final de la heterogeneidad molecular de los receptores de CCK requiere de la purificación del receptor cerebral.

## REGULACION DE LA RESPIRACION; CONTROL DE LA VENTILACION

Coordinador: *Patricio Zapata*

**TRANSPORTE IONICO EN LA REGULACION DE LAS SECRECIONES DE LA VIA AEREA.** (Ion transport and regulation of airway secretion). Corrales R, Departamento de Farmacología, Universidad de Chile. Departamento de Pediatría, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El aparato mucociliar es un complejo sistema que participa en los mecanismos de defensa del pulmón. El transporte iónico que ocurre a través del epitelio ciliar regula la cantidad del fluido periciliar. Este epitelio es secretor de Cl y absorbedor de Na, la secreción de Cl se asocia a contrasporte de Na. El transporte de Na y de Cl es capaz de generar una gradiente eléctrica, lo que determina el desplazamiento de agua secundario al movimiento iónico. Existen tres tipos de epitelios: a) absorbedor de Na, sólo hay absorción de Na, sin secreción de Cl (humano y gato), b) secretor de Cl y absorbedor de Na, en reposo predomina la secreción de Cl (perro), c) secretor de Cl, sólo existe secreción de Cl sin absorción de Na (oveja). Tanto la secreción de Cl como la absorción de Na pueden ser estimuladas. Existen sustancias que: a) estimulan la secreción de Cl sin alterar la absorción de Na (cAMP, teofilina, beta adrenérgicos, PGs EL-E2-F2alfa, sustancia P y polipéptido intestinal vasoactivo, b) inhiben secreción de Cl (Indometacina y otros inhibidores de síntesis de PGs), c) estimulan en forma similar la salida de Na y Cl (Histamina, acetilcolina y alfa adrenérgicos. Estas sustancias pueden cambiar un epitelio absorbedor de Na y agua en secretor de Cl y agua o vice versa.

**ROL DE LA VENTILACION EN EL CONTROL DEL CONTENIDO ALVEOLAR DE SURFACTANTE.** (Role of ventilation on the control of alveolar surfactant content). Dyarzún, M.J. y Clements, J.A. Facultad de Medicina, División Oriente, Universidad de Chile y CVRI, University of California, San Francisco, USA.

El contenido alveolar de surfactante "in vivo" depende de la velocidad de síntesis, secreción y renovación de sus componentes.

El aumento de ventilación incrementa el surfactante alveolar. Esta respuesta es abolida con bloqueadores tanto Beta-2 adrenérgicos como colinérgicos y también con inhibidores de la ciclo-oxigenasa.

La importancia de los receptores Beta-2 adrenérgicos en el control del surfactante está suficientemente demostrada tanto "in vivo" como "in vitro". Se requieren más estudios para evaluar la importancia de prostaglandinas y sistema colinérgico.

En pulmones aislados la hipocapnia disminuye las reservas de surfactante en las células tipo II. A su vez una  $F_iCO_2 = 0.05$  previene la hipocapnia y bloquea el aumento de surfactante alveolar inducido por inyección i.v. de ácidos grasos libres en el conejo.

Por otra parte, el aumento de ventilación duplica la velocidad de remoción alveolar de dipalmitoil fosfatidil colina (principal componente del surfactante) instilada en las vías aéreas en forma de liposomas radiactivos.

En conejos sometidos a colapso pulmonar por neumotórax unilateral de 6 días de duración hay una disminución del surfactante del pulmón colapsado en comparación con el pulmón contralateral o con pulmones de animales controles. No se observaron cambios en la relación de formas activas vs inactivas de surfactante.

Estos resultados indican que el surfactante alveolar es controlado principalmente por los requerimientos ventilatorios del pulmón.

Grant HL-24075-NHLBI; American College of Physicians and Proyecto M-2709-8714 DIB, Universidad de Chile.

**FACTORES MECANICOS EN EL CONTROL DEL CALIBRE DE LA VIA AEREA.** (Mechanical factors in airway narrowing). Moreno R, Departamento de Enfermedades Respiratorias, Hospital Clínico, Universidad Católica de Chile

Además de los reguladores neurohumorales, el calibre de la vía aérea (VA) depende de varios factores mecánicos que limitan o potencian el resultado de la estimulación del músculo liso (ML). El acortamiento del ML depende de las cargas que éste debe vencer. Las principales cargas son la deformación del cartilago en traquea y bronquios así como la tracción radial que el tejido pulmonar ejerce sobre la VA intrapulmonar. Es así como el ablandamiento del cartilago de la VA mediante papaína endovenosa en conejos, resulta en un aumento de la respuesta de la VA a metacolina. Por otra parte, el aumento o disminución de la tracción radial provocado con cambios del volumen pulmonar en conejos ventilados mecánicamente produce, respectivamente, disminución o aumento de la respuesta a metacolina. Además, el estrechamiento de la VA depende de la proporción que el ML ocupa en la circunferencia de la VA (PMC). Finalmente, la disminución del calibre de la VA causada por un determinado acortamiento del ML depende del grosor de la pared y del grosor de las secreciones presentes en el lumen (PW). El efecto de cambios en PMC y PW se puede predecir mediante modelos matemáticos. Se concluye que modificaciones en algunos de estos factores mecánicos pueden ser responsables de aumento de la respuesta de la VA observado en algunas enfermedades pulmonares.

**CONTROL QUIMIOSENSORIAL DE LA VENTILACION.** (Chemorensory control of ventilation). Zapata, P., Laboratorio de Neurobiología, Universidad Católica de Chile.

El comando quimiosensorial periférico sobre la ventilación normóxica de gatos anestesiados con pentobarbitona se revela por disminuciones permanentes y progresivas de la frecuencia de aparición de suspiros espontáneos (inspiraciones aumentadas) al bloquear o seccionar un nervio carotideo, el otro nervio carotideo y ambos nervios aórticos. Estas maniobras también disminuyen transitoriamente el volumen corriente y la frecuencia respiratoria. El comando quimiosensorial también se demuestra por la hipoventilación transitoria al deprimir la actividad quimiosensorial ventilando con  $O_2$  100% o administrando dopamina i.v., respuesta que sólo se presenta cuando uno o ambos nervios carotídeos están intactos.

La hiperventilación refleja provocada por hipoxia citotóxica (NaCN i.v.) depende de la dosis y del número de vías quimioaférentes intactas, desapareciendo luego de seccionar los cuatro nervios "buffer". Esta hiperventilación consiste primariamente en aumento del volumen corriente, que puede llegar a desencadenar suspiros evocados y se traduce secundariamente en aumento de la frecuencia respiratoria. La infusión de dopamina atenúa los cambios de las actividades quimiosensorial y ventilatoria evocados por dosis bajas de NaCN, pero potencia los de las dosis altas.

Los cambios del volumen corriente evocados por administración de dopamina y NaCN se correlacionan en intensidad y tiempo con los cambios de la frecuencia quimiosensorial registrada desde un nervio carotideo.

Se concluye que el comando quimiosensorial en normoxia consiste en una modulación del volumen corriente y del reflejo de inspiración aumentada, mientras la hiperventilación refleja a la hipoxia depende de la excitación de los quimiorreceptores arteriales y de su impacto aferente sobre el "controlador del volumen corriente".

Financiamiento: DIUC, FONDECYT y Fundación Gildemeister.

## ORGANIZACION EN PARALELO EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Coordinador: *Fernando Torrealba*

**ORGANIZACION EN PARALELO EN EL SISTEMA VISUAL DE AVES** (Parallel organization in the avian visual system). Bravo, H. Departamento de Anatomía, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El sistema visual de aves ha demostrado ser de gran utilidad para estudiar las diferentes vías paralelas que en él se han descrito y cuyas características fisiológicas también se han ido conociendo. En el presente trabajo mostraremos evidencias morfológicas basadas en el uso de marcadores intracelulares de la organización en paralelo de este sistema e indicaremos las características funcionales asociadas a cada una de las vías descritas. Las evidencias anatómicas indican que a partir de la retina existe una manifiesta segregación de diferentes canales de información con características morfológicas claras a partir de la capa de células ganglionares. Así por ejemplo, la vía retino-genículo-cortical, que ha sido fisiológicamente asociada principalmente al análisis de la información tridimensional se inicia en una población de células ganglionares de tamaño mediano con una distribución de alta densidad alrededor de la fovea temporal o del área centralis. Por otro lado la vía retino-tecto-fugal que se asocia al análisis de cambios de luminosidad, información cromática y visión panorámica tiene su origen en neuronas ganglionares grandes y pequeñas con una distribución de alta densidad alrededor de la banda horizontal región temporal y fovea nasal. Recientemente se ha identificado además una vía que partiendo de las células ganglionares desplazadas de la retina y cuya distribución topográfica tiene densidades mayores en la periferia, conecta a través del núcleo ectomamilaris directamente con los núcleos oculomotores y corteza del arquicerebelo. Esta vía ha sido asociada con el control de los movimientos oculares y del cuello lo que permitiría centrar la imagen en la fovea automáticamente.

**LA RETINA, UN PROCESADOR PARALELO.** (The Retina, a parallel processor). Orlando Gutiérrez C., Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La percepción visual es más que el simple resultado del flujo de información desde la retina hasta los niveles superiores del Sistema Nervioso. Hay una jerarquía de representaciones intermedias entre la excitación visual y la representación simbólica, así como entre ésta y las consiguientes respuestas adaptativas. La relativa facilidad con que se pueden especificar tanto los elementos claves de un dominio visual como los criterios de reconocimiento de los mismos, ha hecho de la visión un paradigma preferente para estudios en Inteligencia Artificial. En su forma más básica, se busca simular con técnicas computacionales los procesos visuales, en gran parte realizados en el estrecho ámbito de la retina. En ésta, la información es procesada en paralelo y se necesita un conocimiento muy acabado de los mecanismos en juego.

Los conceptos sobre la organización de la retina de los vertebrados están en revisión. Su arquitectura ya conocida asocia los relevos convergentes hacia los centros superiores, receptores, células bipolares y ganglionares, con las conexiones tangenciales de las dos zonas de convergencia, células horizontales y amacrinas. Ahora se superponen a ella un sistema de conexiones bidireccionales y además una estructura fina de microcircuitos en las terminaciones dendríticas de todas las poblaciones celulares. Esta consiste en la existencia de grupos de contactos sinápticos recíprocos que las hacen a la vez pre- y post-sinápticas. Su significado no está claro, pero facilitará la tarea de referir las complejas funciones de la retina a su aparentemente escasa estructura. Las demandas y aportes de los modelos computacionales contribuirán sin duda a resolver este problema.

Apoiado por el proyecto FONDECYT 490-87.

**CONTRIBUCION DE EVIDENCIAS CONDUCTUALES AL ESTUDIO DE LAS FUNCIONES DE LAS AREAS EXTRA-ESTRIADAS VISUALES.** (Contribution of behavioral evidences to the study of the functions of extra-striate visual areas). Quic-Robles, E. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En el mono se ha postulado la existencia de flujos paralelos de procesamiento para diferentes aspectos de la información visual, cada uno de ellos organizado jerárquicamente. En la rata se han descrito 9 áreas extra-estriadas, 7 laterales y 2 mediales a la corteza visual primaria. Sin embargo, los escasos datos electro fisiológicos y estructurales no permiten hacer sugerencias acerca de la organización funcional de estas áreas. Estudios conductuales realizados por nuestro grupo en la rata han permitido diferenciar funcionalmente las áreas extra-estriadas mediales de las laterales. Las áreas laterales aparecen comprometidas en tareas que requieren un alto grado de elaboración de la información visual propiamente tal como en discriminaciones de configuraciones y tareas condicionales visuo-visuales. En cambio las áreas mediales estarían involucradas en la integración de claves de diferentes modalidades sensoriales necesaria para realizar discriminaciones condicionales visuo-somestésicas y visuo-espaciales. Estos trabajos aunque no discriminan entre las diferentes áreas en las regiones lateral y medial, muestran una especialización funcional de estos dos grupos. Esta diferenciación de funciones no es rígida ni pretende ser exhaustiva. Mas aun, en condiciones especiales, ratas con las áreas estriada y extra-estriadas removidas pueden reaprender una discriminación de configuraciones. Esto implica que existen otras regiones, probablemente corticales, que en condiciones que se discutiran son capaces de asumir funciones que normalmente no tienen.

Proyecto B1903/8744 DIB, Univ de Chile.  
Proyecto 5057 FONDECYT

**PROCESAMIENTO EN PARALELO DE LA FUNCION VISUAL DEL CUERPO CALLOSO.** (Parallel processing of the visual function of corpus callosum). Mascetti, Gian G. Laboratorio de Neurobiología, Universidad Católica de Chile.

Las áreas corticales visuales de los dos hemisferios están conectadas por el cuerpo calloso. La comisura interconecta aquellas áreas visuales en las que está representado el meridiano vertical del campo visual. Con respecto a la participación de las conexiones callosales en la función visual, existen diferencias entre las áreas corticales visuales. Las áreas estriada y periestriada (17,18) están conectadas en forma prevalente homotópica. Las otras áreas visuales (19 y suprasilviana) tienen conexiones tanto homotópicas como heterotópicas. Estudios electrofisiológicos han demostrado que las células visuales "callosales" tienen sus campos receptivos (CR) sobre o cerca del meridiano vertical del campo visual. Sin embargo, los CR de las neuronas callosales, de las áreas 17 y 18 tienen dimensiones entre 12-13° mientras que aquellos de las células callosales del área suprasilviana son más grandes (35°). Estudios conductuales de transferencia interhemisférica de aprendizaje visual, han demostrado que esa función no se altera después de la lesión de las áreas callosales estriada y periestriada, pero es abolida después de la lesión del área suprasilviana. Todos estos estudios y otros, sugieren que las conexiones callosales de las áreas visuales primarias tendrían como función la eliminación perceptual de la división entre los dos hemisferios visuales y posiblemente la visión de profundidad en la parte central del campo visual. Las conexiones callosales del área suprasilviana permitirían la equivalencia perceptual entre los dos hemisferios y estarían involucradas en el aprendizaje visual.

Proyecto DIUC 68/86 y FONDECYT 0133/85.

SEGREGACION Y DISTRIBUCION EN EL NUCLEO SENSORIAL VISCERAL. (Sorting out and distribution in the visceral sensory nucleus). Torrealba, F. Lab. Neurobiología, Fac. de Ciencias Biológicas, U. Católica de Chile.

El número de sinapsis en serie en una vía sensorial cualquiera es pequeño a pesar del complejo procesamiento llevado a cabo, el cual es además muy rápido. Ello sugiere que las interacciones laterales y/o recurrentes son importantes en el operar del SNC. Las interacciones laterales se reflejan en parte en lo que se ha llamado procesamiento en paralelo y, desde una perspectiva estructural, en la existencia de innumerables subdivisiones tanto de las agrupaciones neuronales como de las vías de conexión.

El núcleo del tracto solitario (NTS), principal relevo de las aferencias viscerales, está formado por numerosos subnúcleos, cuya existencia puede reflejar tanto características funcionales como su historia de desarrollo. Funcionalmente, la existencia de subdivisiones puede reflejar segregación de aferencias, o bien los subnúcleos distribuyen la información sensorial iniciando "corrientes de procesamiento" paralelas en el SNC.

Existen evidencias que apoyan ambas proposiciones. Hay subnúcleos del NTS que reciben principalmente o exclusivamente aferencias de un solo tipo: el subnúcleo gelatinoso recibe aferencias del estómago, los subnúcleos comisural y dorsal reciben de los receptores carotídeos, los subnúcleos ventrales reciben aferencias del parénquima pulmonar.

En contraste, el subnúcleo medial recibe fibras de una variedad de receptores viscerales, y proyecta junto con el subnúcleo comisural al n. parabraquial, relevo al diencefalo también de actividad gustatoria. El subnúcleo lateral distribuye a través de la oliva inferior información desde receptores vasculares al cerebelo, participando en reflejos ortostáticos. Se comparará el NTS con otros relevos sensoriales en el contexto de su organización funcional.

Financiado por proyectos DIUC 84/87 y FONDECYT 696.

## GENETICA DE ORGANISMOS MARINOS

Coordinador: *Nelson Díaz*

VARIABILIDAD GENETICA EN TRES ESPECIES DE PECES PELAGICOS (Genetics variability in three species of pelagic fish). Galleguillos, R.\* y Torres, A.\*\* Departamento de Biología y Tecnología del Mar, Pontificia Universidad Católica de Chile, Sede Talcahuano\*. Instituto de Fomento Pesquero, Base Iquique \*\*.

En el presente trabajo se entrega información acerca de la variabilidad genética poblacional en tres especies de peces de tipo pelágico de amplia distribución, de gran importancia comercial tanto para pesquerías industriales como artesanales.

Las especies son *Engraulis ringens* (anchoveta), *Sardinops sagax sagax* (sardina española) y *Trachurus murphyi* (jurel).

Por medio de análisis electroforético de enzimas se establecen los sistemas polimórficos, que sirven como base para el estudio comparativo de poblaciones a través del análisis de frecuencias génicas. También se integra a estos datos información morfométrica.

Se discute el método utilizado para su aplicación en la determinación de estoc en peces pelágicos. Por otra parte se entrega una visión general del estado actual de la investigación en la genética evolutiva de peces, considerando procesos macro y microevolutivos.

Financiamiento: Subsecretaría de Pesca; PNUD; FONDECYT.

RELACION ENTRE ESTRUCTURA GENETICA Y ALGUNOS PARAMETROS BIOTICOS Y ABIOTICOS EN LA OSTRA CHILENA, *TIOSTREA CHILENSIS* (Relationship among genetic structure and some biotical and abiotical parameters in the Chilean oyster, *Tiostrea chilensis*). Guíñez, R., Universidad Católica de Chile, Talcahuano. Dirección actual: Dept. Biol. Ambiental, Casilla 114-D, Santiago.

La ostra chilena, *Tiostrea chilensis*, es un molusco litoral con larva planctónica de corta duración (minutos-horas) que principalmente busca un sustrato duro adecuado, en el cual asentarse y encaementarse, de tal modo que su adultez es sésil. Dadas estas características es esperable que tanto la distribución en el espacio, y el grado de agregamiento, como otros aspectos de la biología poblacional de la ostra estén determinados por la distribución en el espacio de los sustratos disponibles, y por el complejo conjunto de interacciones biológicas y condiciones abióticas que sufren los individuos y que pueden cambiar sobre pequeñas distancias en el litoral.

Para el banco de ostras de Pullinque se ha encontrado una correlación negativa entre el grado de dureza del sustrato y la profundidad. Por lo cual fue nuestro objetivo investigar el efecto que, el gradiente de dureza del sustrato en función de la profundidad, tiene sobre las ostras del banco, en términos de su estructura genética para dos loci enzimático, apiñamiento medio, (mean crowding), parchamiento (patchiness) y talla máxima.

Se encuentra que en la medida que la profundidad disminuye y el sustrato se hace más duro, la densidad y el apiñamiento medio aumentan y, en cambio, el parchamiento, la talla máxima y la heterocigosidad genética disminuye.

Se discuten los resultados en términos de heterogeneidad ambiental, variabilidad genética y factores selectivos y ecofisiológicos que explicarían estos resultados. Financiamiento: Proyecto Fomento DIUC 2F/84.

## AVANCES METODOLOGICOS EN ECOLOGIA DE COMUNIDADES Y POBLACIONES

Coordinador: Julio Gutiérrez

**MÉTODOS MULTIVARIADOS EN EL ANÁLISIS DE LA VEGETACION: IDENTIFICACION DE LA ESTRUCTURA COMUNITARIA Y SUS CAUSAS.** (Multivariate methods in vegetation analysis: the identification of community structure and its causes). J.J. Armesto. Laboratorio de Sistemática y Ecología Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los resultados de un estudio de vegetación en el terreno se resumen comúnmente en una tabla con filas (especies) y columnas (parcelas), y datos de abundancia de las especies en cada parcela. Estas tablas pueden representarse como matrices. Técnicas multivariadas de clasificación y ordenación tienen como propósito revelar la "estructura" subyacente en una matriz de datos, y conducir a la generación de hipótesis sobre las causas de dicha estructura.

Los métodos de clasificación y ordenación se basan usualmente en la transformación de la matriz original en una matriz de similitudes (o distancias) entre unidades (especies o parcelas). Como consecuencia, los resultados son altamente dependientes de las propiedades métricas de los índices de similitud y de la "calidad" (propiedad biológica y estadística) de los datos de abundancia.

Con la disponibilidad de programas de computación que aplican estos métodos en forma automática, muchos investigadores no se preocupan de entender los fundamentos y limitaciones de cada técnica, por lo que carecen de elementos para juzgar razonablemente sus resultados. En este trabajo se examinan las bases teóricas y prácticas de las técnicas más populares, y se discuten las restricciones que el modelo teórico asociado a los métodos de ordenación impone en la identificación de la estructura comunitaria y de los mecanismos que la producirían.

Proyecto DIB N° 2210-8735.

**EL ACUCHILLAMIENTO DE DATOS COMO METODO DE OBTENCION DE INTERVALOS DE CONFIANZA Y DE PRUEBA DE HIPOTESIS PARA INDICES ECOLOGICOS.** (Jackknifing of data as a method for obtaining confidence intervals and for hypothesis testing of ecological indexes). Jaksić, F. y Medel, R. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Muchos estudios comunitarios se basan en el análisis de índices que resumen información sobre riqueza y abundancia relativa de especies (índices de diversidad), sobre número y uso relativo de recursos por consumidores (amplitudes de nicho) y sobre co-uso de recursos por especies simpátridas (sobreposiciones de nicho). Sin embargo, los intervalos de confianza de estos índices son muy raras veces provistos por los autores y consecuentemente, la docimación de hipótesis simplemente no se realiza.

Antiguamente podía usarse la excusa que no había derivados analíticos de varianza para los índices referidos, pero con el advenimiento de calculadoras programables y, más recientemente, de computadores personales, dicha excusa no es válida. En términos metodológicos, si bien las derivaciones analíticas de algunos índices son imposibles de obtener, el uso del método de acuchillamiento de datos ("Jackknife") provee estimadores parámetros de media, varianza y sesgo, mediante una calculadora programable. Por otra parte, el acuchillamiento combinado con re-asignaciones estocásticas de los datos ("Bootstrap") permite estimaciones no-paramétricas de los estadígrafos de interés, mediante un computador personal.

Estas técnicas son ejemplificadas para índices de diversidad, de amplitud y sobreposición de nicho, y para el análisis de significación de conglomerados ("clusters").

**EL USO DEL DISEÑO EXPERIMENTAL EN EXPERIMENTOS DE TERRENO.** (The use of experimental design in field experiments). Gutiérrez, J.R. Departamento de Biología, Universidad de La Serena, La Serena.

Uno de los problemas básicos a los que se enfrenta un ecólogo para realizar experimentos en terreno es que las unidades experimentales (U.E.) no son homogéneas y por lo tanto el error experimental (E.E.) es alto. Esto puede llevar a que diferencias reales entre tratamientos no sean detectadas.

El diseño experimental es un método que permite controlar en parte el E.E. El diseño que se usa más frecuentemente es el completamente al azar. Sin embargo, este diseño es a menudo ineficiente en el terreno, ya que la disposición de las U.E. o la asignación de los tratamientos es completamente aleatoria y por lo tanto el E.E. incluye la variación total entre las U.E.

En muchas situaciones, es posible agrupar las U.E. de manera que la variación entre U.E. dentro de los grupos sea menor que entre U.E. de diferentes grupos. Existen diseños experimentales que permiten extraer la variación entre grupos del E.E. y aumentar así la precisión del experimento.

Se discute las bondades y desventajas que presentan los siguientes diseños experimentales: Completamente al Azar, Bloques Completamente al Azar, Cuadrado Latino y Parcela Dividida.

**PREMISAS IGNORADAS EN EL USO DE METODOS DE CAPTURA-RECAPTURA.** (Neglected assumptions in the use of capture-recapture methods). Simonetti, J.A. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los métodos de captura-recaptura son frecuentemente empleados para caracterizar conjuntos de micromamíferos. Los datos obtenidos por estos métodos se usan para determinar el número de especies y su abundancia, y patrones de uso del espacio.

El valor de los datos obtenidos depende, en parte, de la satisfacción de las premisas de los métodos empleados. Pese al amplio uso, las premisas de estos métodos son generalmente ignoradas. Entre estas premisas, se supone que: a) la riqueza de especies y la abundancia, expresada como número mínimo de individuos o éxito de captura por especie, es independiente del esfuerzo de captura; b) la probabilidad de captura es homogénea entre los individuos de cada población; c) las capturas sucesivas de cada individuo son eventos independientes; d) la frecuencia de captura en cada microhabitat es independiente de la disposición espacial de la trampa; e) el tamaño del ámbito de hogar es independiente del tamaño de la muestra.

Este trabajo analiza el cumplimiento de estos supuestos en el muestreo de mamíferos centro chilenos y discute el significado de estas para establecer comparaciones y generalizaciones empíricas.

Trabajo financiado parcialmente por DIB N 2598-8714, y FONDECYT 407, 1987.

## TRANSPORTE DE ORGANELOS Y ORGANIZACION DEL CITOESQUELETO EN SISTEMAS EN DESARROLLO

Coordinador: *Juan Fernández*

PARTICIPATION OF THE CYTOSKELETON IN OOPASMIC SEGREGATION IN LEECH EGGS (Participación del citoesqueleto en la segregación ooplásmica en huevos de sanguijuela). Fernández, J. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile. Casilla 653 Santiago, Chile.

Important changes in the organization of the uncleaved egg take place shortly before initiation of the first cleavage division. One such change refers to segregation of organelles leading to establishment of ooplasmic domains. During cleavage these domains are funneled orderly into different blastomeres that give rise to the founder cells of various cell lines. Ooplasmic domains are thought to enclose morphogenetic determinants. Thus, the study of the structure and the manner of formation of ooplasmic domains may contribute to the understanding of mosaic development.

The egg of the leech *Theromyzon rude* includes 3 prominent ooplasmic domains: the perinuclear plasm at the egg center and the teloplasms at the poles. The perinuclear plasm forms by accumulation of organelles around the sperm nucleus. This process is accompanied by peripheralward elongation of microtubules of the sperm aster and is blocked by high concentrations of colchicine. The teloplasms form by poleward accumulation of organelles in 2 episodes of ooplasmic segregation. The early episode is coupled to displacement of a contractile ring provoking emission of the first pole cell. The late episode is accompanied by constriction of two polar rings and shortening of several meridional bands of contraction. Both episodes of ooplasmic segregation involve translocation of an actin lattice toward the egg poles. High concentrations of colchicine or cytochalasin B prevent or disturb formation of the teloplasms.

It is concluded, that the pattern of ooplasmic segregation in leech eggs is closely related to the organization of its cytoskeleton (Proyect B 1987/8745. Universidad de Chile).

ROLE OF THE CYTOSKELETON IN MESSENGER RNA LOCALIZATION AND TRANSPORT IN EGGS. Jeffery, W. Center for Developmental Biology, University of Texas, Austin, Texas, U.S.A.

Messenger RNA (mRNA) is localized in unique cytoplasmic regions in eggs of certain invertebrates and vertebrates. In ascidian and annelid eggs, mRNA localization is finalized during ooplasmic segregation, a process involving movements of organelles and macromolecules over appreciable distances through the egg cytoplasm. Recently, it has been shown that mRNA molecules are associated with the cytoskeleton in these eggs (Jeffery, W., 1984, *Dev. Biol.* 103:484; 1985, *Dev. Biol.* 110:217), and that this association promotes mRNA movements during ooplasmic segregation. I will discuss the development of an *in vitro* system for the identification of mRNA binding sites in the cytoskeleton of these eggs. The binding of specific cloned probes to cytoskeletons *in vitro* suggest that mRNA is associated with the cytoskeleton via its 3' untranslated region. Similar experiments suggest that the cytoskeletal elements involved in this binding are resistant to very high ionic strength and may be intermediate filaments. A model will be presented that integrates these results and defines the role of the cytoskeleton in mRNA localization and transport in eggs.

THE CYTOSKELETON IN EMBRYONIC REGULATION (El citoesqueleto en la regulación embrionica). Luis Izquierdo. Depto. de Biología, Fac. de Ciencias, U. de Chile.

The cytoskeleton of mammalian ova is probably involved in the mechanism that ensures the correlation among parts, and their dependence on the whole, which manifests itself in normal development and in the normalization of experimentally disturbed embryos, that is, in embryonic regulation.

Two-cell mouse ova whose cytoplasm has been stratified by centrifugation, recover and develop into blastocysts. The recovery is delayed, but not prevented, by drugs that interfere with microtubules or microfilaments. The microvilli, which are stuffed with microfilaments, disappear during compaction on the contact surface between blastomeres but reappear when blastomeres are disaggregated. In more advanced stages of compaction long microvilli form a ring around the cell contact surfaces and their actin microfilaments connect the cytoskeleton of adjoining blastomeres thus integrating a whole embryo. At this stage, blastomeres dislodged from a morula are no longer able to regulate, even though they are still undetermined; however, morulae placed in contact do regulate and form chimaeras. This regulatory response to aggregation begins with the disappearance of microvilli on the cell membrane at the artificial contact.

These and other observations strongly suggest that embryonic regulation during early mammalian development involves the cytoskeleton, which may act as a fundamental scaffold responsible for keeping and restoring spatial order. (Research grants from the University of Chile and FONDECYT are gratefully acknowledged).

CENTROSOMAL INHERITANCE AND MOTILITY DURING FERTILIZATION. Schatten, G. and Schatten, H. Integrated Microscopy Resource for Biomedical Research, University of Wisconsin, Madison, WI 53706 USA. The organization of the cytoskeleton and the regulation of motility have been investigated during fertilization in sea urchins and in mice. Latrunculin, a new microfilament inhibitor, interferes with sperm incorporation in sea urchins but not in mice, reinforcing the suggestion that these two systems accomplish fertilization in different manners. In sea urchins, an actin-spectrin gel interacts with the plasma membrane at the site of sperm incorporation whereas spermhead incorporation in the mouse occurs without any apparent microfilament involvement; the formation of the second polar body requires microfilament activity. Centrosomes are traced in sea urchins with a human autoimmune antibody and a mouse monoclonal antibody generated against *Drosophila* intermediate filament protein, which reacts with a 68 Kd antigen in sea urchins. The sperm contributes this structure which spreads and duplicates as shown by Boveri at the turn of the century. Surprisingly the mouse sperm does not bind centrosomal antibodies, and instead it appears that this structure is maternally inherited in this mammal. Parthenogenesis experiments support this unexpected conclusion. Centrosomes are not found in the unfertilized mouse oocyte, as studied with serial thick sections and high voltage electron microscopy. Though the sperm contributes a centriole-like structure at fertilization, it does not seem to be involved in the formation of the first mitotic spindles. Instead mitoses occur in the absence of centrosomes. Remarkably centrosomes are not observed until the second trimester of fetal development. These studies demonstrate that, contrary to expectations, fertilization in this mammal raises several significant questions involving the fundamentals of cell organization and motility.

**THE CYTOSKELETON IN GASTRIC ACID-SECRETING CELLS** (El citoesqueleto en células gástricas secretoras de ácido). Garrido, J., González, A., Vial, J., Koenig, C. & Dabiké, M. Depto. de Biología Celular, Fac. de Ciencias Biológicas, y Depto. de Reumatología e Inmunología Clínica. Fac. de Medicina, P. Universidad Católica de Chile.

Proton translocation across the gastric mucosa is carried out in Vertebrates by cells generically known as "oxyntic cells". The comparison between resting and actively secreting oxyntic cells shows dramatic changes which primarily involve the apical plasma membrane and a system of smooth-walled membranous tubules and vesicles which occupies the cytoplasm at the apical pole. The 10- to 20-fold increase in apical membrane area seen on secretion is almost certainly due to addition of cytoplasmic tubulovesicles to the plasma membrane. Actin filaments are seen to course parallel to the plasma membrane to which they are connected by bridges; they are also arranged as a close-spaced cortical meshwork which does not seem to contact the tubular cytoplasmic membranes. Since both membrane systems appear to be interconvertible, actin-membrane relationship must vary on activation. After detergent extraction actively secreting cells show self-coherent actin scaffolds related to apical microvilli and plicae, which are absent in resting cells. Immunocytochemistry on permeabilized cells has shown a spectrin-like reactivity in the cell periphery. Such a protein may be involved in the linking of actin filaments to membranes. Intermediate filaments are arranged in a network of bundles which may support the highly mobile apical pole.

**XXX REUNION ANUAL  
SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE**

**XX REUNION ANUAL  
SOCIEDAD DE GENETICA DE CHILE**

**XI REUNION ANUAL  
SOCIEDAD DE BIOQUIMICA DE CHILE**

**IX REUNION ANUAL  
SOCIEDAD DE FARMACOLOGIA DE CHILE**

**II REUNION ANUAL  
SOCIEDAD CHILENA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS**

**COMUNICACIONES LIBRES**

**La Serena, Chile  
25 al 28 de noviembre de 1987**

PRESERVACION DE FUNCION CATECOLAMINERGICA EN LINEAS HIPOTALAMICAS DE RATA ADULTA EN CULTIVO. (Catecholaminergic function preservation of adult rat hypothalamic lines in culture). Abarca, J., Salas, K. y Caviedes, R. Laboratorio de Farmacología Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile y Laboratorio de Cultivo de Tejidos, Depto. de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Dada la creciente demanda por líneas celulares funcionantes en Neurobiología, y con el objeto de evaluar la real potencialidad de nuestras técnicas para inducir división perpetua en cultivo, a poblaciones neuronales discretas del S.N.C. adulto (R. Caviedes, et al., Brain Res. 365: 259-268, 1986) se establecieron dos líneas de hipotálamo total (HT) y de núcleos hipotalámicos dorsomedial (DM) y arcuato (ArC).

Funciones catecolaminérgicas se estudiaron en las cuatro líneas por la técnica de Fack e Hillarp y determinando por HPLC-ED, el contenido endógeno de noradrenalina (NA) y dopamina (DA).

Las líneas DM y ambas HT contienen NA (25-30 ng/mg prot) y DA (3-5 ng/mg prot.). La captación de  $^3\text{H}$ -NA en una línea HT fue dependiente de sodio externo, sensible a temperatura e inhibida por benzotropina 50  $\mu\text{M}$ . La liberación de la  $^3\text{H}$ -NA recién captada aumenta al incrementar el  $\text{K}^+$  en el medio o al agregar veratridina 25  $\mu\text{M}$ , es inhibida por nifedipina 100  $\mu\text{M}$  y es dependiente de calcio externo. Análisis de catecolaminas por HPLC-ED de ambas líneas HT, incubadas con NSD-1015 ( $5 \times 10^{-4}$  M), permiten detectar la aparición de L-DOPA, precursor ausente en incubaciones sin el inhibidor y el cual aumenta con la adición de reserpina  $5 \times 10^{-3}$  M.

En conclusión los cuatro linajes celulares estudiados retienen funciones catecolaminérgicas en cultivo permanente.

PURIFICACION Y CONTROL POR GIBERELINAS DE LA PRESENCIA DE ISOENZIMAS DE  $\alpha$ -AMILASA EN SEMILLAS Araucaria araucana (Mol.) Koch. (Purification and gibberellin regulation of the  $\alpha$ -amylase isoenzymes present in seeds of Araucaria araucana (Mol.) Koch.) Acevedo, E., Depto. Biología, Fac. de Ciencias, U. de Chile (Patrocinio: W. Lazo).

La enzima  $\alpha$ -amilasa obtenida de semillas de Araucaria araucana presenta 6 isoformas. Las isoenzimas han sido purificadas. Los pasos de purificación incluye tratamiento a 70°C, precipitación con glicógeno y cromatografía de afinidad Sepharosa-CHA. Los pesos moleculares de las 6 isoenzimas fueron determinados por electroforesis de poliacrilamida en SDS. Fraccionamiento a través de una columna DEAE-celulosa usando un gradiente de 0 - 0.6 M de NaCl ha permitido separar las isoformas mayores del resto de las isoenzimas.

Inhibidores de la síntesis de giberelinas AMO 1618 y CCC en concentraciones de  $10^{-4}$  M para AMO 1618 y 15 mM para CCC, afecta tres de las 4 isoenzimas presentes en el embrión a las 90 hrs. de imbibición. Estas 3 isoenzimas están disminuidas cuando el inhibidor es AMO 1618 y desaparecen completamente cuando el inhibidor es CCC. La actividad total de  $\alpha$ -amilasa se reduce a 37% del control en presencia de CCC.

(Proyecto DIB B1580-8755, U. de Chile)

INFLUENCIA DE CALCIO SOBRE LA ACTIVIDAD CONTRACTIL PURINERGICA EN VEJIGA DE RATON. (Influence of calcium on the purinergic contractile activity of the mouse urinary bladder). Acevedo, C.G., Contreras, E. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

Se ha demostrado que la neurotransmisión excitatoria en la vejiga de ratón tiene una pequeña participación colinérgica, siendo presumiblemente el ATP o algún nucleótido de purina el agente responsable de mayor significación en la actividad contráctil de este órgano. El rol del calcio iónico en el proceso contráctil del músculo liso se encuentra establecido a nivel de numerosos efectores. En este trabajo se ha estudiado el efecto de calcio sobre el componente purinérgico de la actividad contráctil de vejiga de ratón.

Se empleó la técnica de órgano aislado montándose un trozo de vejiga entre 2 electrodos de platino. Se practicó estimulación eléctrica con pulsos de 2 mseg con voltaje supramáximo y a frecuencias variables (0.1-50hz) Se estudió el efecto del calcio y de bloqueadores de los canales de calcio sobre la respuesta neurogénica y sobre las contracciones inducidas por ATP.

Las respuestas contráctiles de vejiga inducidas por K (54 mM), estimulación eléctrica y administración de ATP son dependientes de la concentración de calcio extracelular. Las contracciones inducidas por K fueron antagonizadas en forma dosis dependiente por diltiazem. Del mismo modo las respuestas inducidas por la estimulación eléctrica y ATP exógeno fueron antagonizadas por la presencia de diltiazem en el medio.

Los resultados sugieren que la respuesta contráctil de la vejiga urinaria de ratón mediada a través de la ocupación de receptores purinérgicos  $\text{P}_{2\gamma}$  depende fundamentalmente de la presencia de calcio extracelular. Proyecto N°20.33.29 de Dirección de Investigación, Universidad de Concepción.

INFLUENCIA DE LA TROPOLONA EN EL EFECTO DEL ETANOL EN EL SNC EN RATONES (Influence of Tropolone on the effect of ethanol upon the CNS in mice). Acevedo, X., Tomassovich, M., Sierralta, F. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

En estudios previos hemos demostrado que la serotonina y la noradrenalina intervienen en el efecto depresor central del etanol. El rol que juega la dopamina (DA) en este efecto no ha sido bien establecido. Para contribuir a ello se estudia el efecto de un inhibidor de la dopamina  $\beta$ -hidroxilasa (DBH) y de la catecol-O-metiltransferasa (COMT) -la tropolona- en la duración de la narcosis por etanol (3.75 g/kg i.p.) en ratones tanto normales como sometidos a pretratamiento con metoclopramida (MCP, 75.0 mg/kg i.p.), un antagonista dopaminérgico selectivo D-2 y con L-DOPA (130 mg/kg i.p.), amonóclido que por descarboxilación aumenta la síntesis de DA, previo tratamiento con benserazida (BZ, 50 mg/kg i.p.), sustancia que impide la descarboxilación periférica de la L-DOPA.

La tropolona, 6.25 mg/kg i.p., aumentó levemente el tiempo de narcosis, pero al asociarla a metoclopramida, no antagonizó el efecto depresor que esta última produce. Así mismo, el asociarlo a L-DOPA, previo tratamiento con benserazida, el tiempo de narcosis aumentó significativamente. Cuando se asocia metoclopramida a L-DOPA -BZ, aunque hay una leve disminución del tiempo de narcosis, con respecto a metoclopramida, ésta no es significativa.

Estos resultados contribuyen en forma parcial a esclarecer la influencia de la DA en el efecto control del etanol.

Financiado por el Departamento de Investigación y Biotecas, Universidad de Chile. Proyecto B.2373-8723.

$\Delta^{24}$ -ESTEROL METILTRANSFERASA DE *S. cerevisiae*: INHIBICION POR SULFONIO DERIVADOS DE SUPUESTOS INTERMEDIARIOS CATIONICOS. (Yeast  $\Delta^{24}$ -Sterolmethyltransferase: Inhibition by sulfonium analogs of the presumptive cationic intermediates). Acuña, A.P. y Oehlschlager, A.C. Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso y Department of Chemistry, Simon Fraser University, Burnaby, B.C., Canadá. (Patrocinio: R. Guerra).

La enzima responsable de la introducción del C-28 en la cadena lateral de precursores inmediatos del ergosterol en levaduras es la SAM:  $\Delta^{24}$ -esterolmetiltransferasa (24-SMT). Análogos sulfonio de supuestos intermediarios cationicos formados durante este proceso demostraron ser potentes inhibidores del mismo, tanto *in vivo* como *in vitro*. En presencia de estos derivados, cultivos de levaduras produjeron cantidades aumentadas de zimosterol, el sustrato natural para la enzima, mientras que ergosterol y ergostatetraenol disminuyeron. El poder inhibitorio encontrado *in vivo* [ $I_{50}$  ( $\mu$ M)] fue: 25-tiacolesteril yoduro (0,07) > 24 (S)-metil-25-tiacolesteril yoduro (0,14) > 24 (S)-metil-25-tiacolesteril yoduro (0,25). Estudios cinéticos de inhibición en los que se utilizaron SAM marcada, enzima parcialmente purificada y 25-tiacolesteril yoduro, mostraron a este derivado como un inhibidor incompetitivo de zimosterol ( $K_i = 2,4$  mM) y competitivo con respecto a SAM ( $K_i = 1,1$  mM). Estudios de velocidad inicial de la reacción de transferencia del grupo metilo en los que se utilizaron SAM y zimosterol como sustratos, resultaron en la obtención de una familia de rectas paralelas. En conjunto, estos resultados constituyen una fuerte evidencia de un mecanismo de Ping-Pong para la 24-SMT de *S. cerevisiae* donde el paso esencialmente irreversible lo constituiría la transferencia del grupo S-metilo de la SAM a la enzima.

POTENCIALIDAD REPRODUCTIVA DE SEMILLAS EN POBLACIONES DE *Atriplex repanda*. (Reproductive potential of seeds in *Atriplex repanda* populations). Aguilera, L., Moreno, R.J. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena. (Patrocinio: J.R. Gutiérrez).

La baja capacidad germinativa de las semillas de *A. repanda*, que en condiciones naturales no supera el 1%, ha sido ampliamente estudiada desde un punto de vista fisiológico y bioquímico con el objeto de incrementar la germinación con tratamientos específicos. Por esta razón, a pesar que las poblaciones naturales producen abundante cantidad de frutos, la resiembra natural es muy baja o casi nula.

En el presente trabajo se cuantifica la variabilidad interpoblacional de frutos y semillas colectados en 11 poblaciones nativas y en plantas de las mismas poblaciones, cultivadas en un campo experimental.

Se analizó número y calidad de frutos, y la calidad de sus semillas. La calidad del fruto se determinó por la presencia de semilla bien estructurada y la calidad de las semillas por la prueba del tetrazolium. Se cuantificó además, las tasas de germinación en un gradiente de salinidad.

Se encontró que los frutos y semillas de las poblaciones naturales difieren significativamente para los caracteres estudiados. Sin embargo, en el campo experimental la respuesta para estos caracteres fue mas homogénea. Se discute acerca de los posibles efectos ambientales y/o genéticos para los caracteres analizados.

Financiamiento: FONDECYT y DIULZ.

CITOESQUELETO DE HUEVOS DE RATON CENTRIFUGADOS\* (Cytoskeleton of centrifuged mouse ova) Ahumada, A. & Sepúlveda, M.S.\* Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Se ha mostrado que la centrifugación de huevos de ratón de 2 células entre 70.000 y 90.000 x g, produce estratificación del citoplasma y alargamiento del núcleo hacia el polo centrifugo sin alterar la integridad del cortex. Los huevos centrifugados se recuperan en cultivo perdiendo la estratificación (excepto el casquete de lípidos) en menos de 1 h, prosiguiendo la segmentación hasta que se forman blastocistos de aspecto normal. Esto sugiere la existencia de un andamiaje citoesquelético relativamente elástico que reubica los componentes citoplasmáticos en su posición original.

Hemos estudiado con microscopio de luz y electrónico la organización del citoesqueleto en huevos centrifugados y extraídos con Tritón X-100 y analizado el efecto de drogas (Colcemid y Citocalasina D) que desarman microtúbulos y microfilamentos.

Se distingue una densa red cortical de actina que se proyecta hacia el interior de la célula penetrando el material fibrilar y rodeando el núcleo. También se reconocen microtúbulos relativamente escasos frecuentemente asociados espacialmente con digitaciones del polo centripeto del núcleo. No se reconocen filamentos intermedios. En huevos tratados durante la centrifugación con Colcemid o a 4°C no se observan digitaciones en el polo centripeto del núcleo. Cuando se utiliza Citocalasina, se observa la retracción de la carioteca del polo centripeto del núcleo y un cierto desplazamiento de todo éste en dirección centrifuga.

En conclusión, los microtúbulos y especialmente los microfilamentos son responsables del anclaje del núcleo al centro de la célula y probablemente participen en el reordenamiento espacial del citoplasma. Financiado: Fondecyt, DIB. \*:becario Fundación Andes.

CHARACTERIZACION PARCIAL Y LOCALIZACION SUBCELULAR DE PROTEASAS ALCALINAS EN HIGADO DE *GENYPTERUS MACULATUS* "Congrio Negro". (Partial characterization and subcellular distribution of alkaline proteases from *Genypterus maculatus* liver). Ainol, L. y Sánchez, L. Depto. Biología Molecular. Fac. Cs. Biol. y Rec. Nat., Universidad de Concepción.

Con el objeto de investigar la participación de sistemas proteolíticos en el aporte de aminoácidos para los requerimientos en los organismos marinos, se determinaron actividades proteolíticas en un homogeneizado de hígado de *G. maculatus* utilizando como sustrato caseína-urea. Se encontraron dos máximos de actividad uno a pH 7.2 y otro a pH 9.1. El  $Ca^{+2}$  aumentó levemente la actividad de pH 7.2 e inhibió en un 30% la de pH 9.1. El  $\beta$ -mercaptoetanol incrementó el efecto inhibitorio del  $Ca^{+2}$  sobre esta última.

La actividad a pH 7.2 presentó un máximo a 37°C y la de pH 9.1 a 45°C.

Con el objeto de ubicar intracelularmente ambas actividades, se procedió a una centrifugación diferencial del homogeneizado. Ambas actividades se detectaron en el sedimento de 105.000 x g. De acuerdo a las enzimas marcadas utilizadas, corresponderían a enzimas lisosomales.

Proyecto Nº 20.31.20 Dirección de Investigación. U. de Concepción.

ISOENZIMAS EN PECES: EXPRESION GENETICA Y PURIFICACION DE LA LDH (E.C.1.1.1.27) EN JUREL TRACHURUS MURPHYI (NICHOLS, 1920) (Isozymes in Fishes: Expression and Purification of LDH in *T. murphyi*). Alay F., J.F. Gavilán, E. Almonacid y J. Cabello. Depto. de Biología Molecular, Laboratorio de Genética, Universidad de Concepción, Chile. (Financiado Proyecto DIC: 20.31.07).

Actualmente los estudios de Genética de Poblaciones en organismos 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.

Al respecto, los peces son especialmente apropiados como grupos de estudio, dados entre otros aspectos, su extrema diversidad, gran tamaño poblacional y facilidad de captura, por lo que existen numerosos trabajos sobre marcadores genéticos con el fin de conocer y caracterizar las distintas poblaciones.

T. murphyi "Jurel" es uno de los recursos icticos que han experimentado el mayor aumento en las capturas en los últimos años, ocupando en Chile el primer lugar entre las pesquerías, por lo cual se hace conveniente una política de manejo adecuado para la especie.

El presente trabajo, entrega información en torno a la expresión de la enzima Lactato deshidrogenasa (LDH) aislada de varios tejidos de "Jurel" mediante electroforesis en gel de almidón. Los resultados parecen indicar que el cerebro presenta la mejor expresión de la enzima y que LDH estaría determinada por la expresión de 3 loci ya que el zimograma de 500 ejemplares revela 12 bandas. Además, se entregan resultados preliminares de la purificación de esta isoenzima en músculo de Jurel.

DETECCION DEL FLUJO DE SUPERFUSION POR CUERPOS CAROTIDEOS IN VITRO. (Superfusion flow detection by the carotid body in vitro). Alcayaga, J. y Zapata, P. Laboratorio de Neurobiología, Universidad Católica de Chile.

Se estudió la relación entre la actividad quimiosensorial y el flujo de superfusión de cuerpos carotídeos in vitro. Las preparaciones se extrajeron de gatos anestesiados, y se superfundieron con solución Tyrode modificada, amortiguada a pH 7,41 con HEPES-NaOH, a 37,7°C y equilibrada con O<sub>2</sub> 100% o 20% en N<sub>2</sub>. La frecuencia de impulsos quimiosensoriales se midió en condiciones basales, con flujos entre 0,15 y 2,95 ml/min, y durante detenciones del flujo de 5 min de duración. La detención del flujo producía un aumento de la descarga quimiosensorial, alcanzando un valor máximo y estable 3 a 4 min después del inicio de la maniobra. La frecuencia máxima de descarga era independiente del flujo previo, pero el tiempo necesario para alcanzar la mitad de la excitación máxima era mínimo cuando el flujo previo era de alrededor de 0,7 ml/min. La actividad quimiosensorial en condiciones basales era mayor a flujos más bajos. También era mayor en soluciones con O<sub>2</sub> 20% a cualquier flujo. Para comparar los datos obtenidos de todos los animales, se estandarizó cada frecuencia basal a su respuesta máxima inducida por detención del flujo. El mejor ajuste entre la actividad quimiosensorial estandarizada y el flujo se logró mediante curvas sigmoides decrecientes ( $r = 0,9$  en O<sub>2</sub> 100% y  $0,84$  en O<sub>2</sub> 20%), a partir de las cuales se derivó las funciones de ganancia. Las ganancias máximas en O<sub>2</sub> 100% eran 1,6 veces mayores que las obtenidas en O<sub>2</sub> 20%, sin diferencias sustanciales del flujo al cual se obtienen (0,78 y 0,86 ml/min, respectivamente). Se concluye que la frecuencia de descarga quimiosensorial de los cuerpos carotídeos superfundidos in vitro queda determinada por el flujo de superfusión, siempre que el resto de los estímulos quimiosensoriales se mantenga constante.

Financiamiento: DIUC, FONDECYT y Fund. Gildemeister.

POTENCIALES DE FLUJO EN CANALES DE POTASIO ACTIVADOS POR CALCIO. (Streaming Potentials in calcium activated potassium channels).

Alcayaga, C. y Alvarez, O.  
Facultad de Ciencias, Depto de Biología, Universidad de Chile. Centro de Estudios Científicos de Santiago.

Los canales de potasio activados por calcio de membrana de túbulo transversal de músculo esquelético de conejo y de músculo liso de intestino de conejo pueden ser estudiados incorporándolos en bicapas lipídicas artificiales. Al imponer un gradiente osmótico agregando un no electrolito impermeante en uno de los lados de la bicapa, se produce un flujo osmótico de agua a través del canal que arrastra iones. El flujo iónico acoplado al agua genera una diferencia de potencial a través de la membrana. Este potencial ( $V_s$ ) es directamente proporcional al número de moléculas de agua,  $N$ , en el interior de un canal cuando está ocupado por un solo ion, de acuerdo a:  $V_s = N \times cte$ .

En un intervalo de concentraciones de KCl entre 20 mM y 500 mM, y para una diferencia de presión osmótica producida por glucosa 2 osmolar, se obtuvieron potenciales de flujo del orden de 1,5 mV. Esto implica que se transportan dos moléculas de agua por cada ion potasio que pasa a través del canal. Por lo tanto aquella zona del canal en que los flujos están acoplados mide 0,8 nm de longitud. Este resultado apoya el modelo que describe al canal con forma de reloj de arena con dos vestibulos amplios unidos por una zona intermedia corta y estrecha, donde los iones y el agua se transportan en fila india.

Financiado por: DIB, Proyecto B-1985-8523. FONDECYT, Proyecto 0483-1987. Fundación Tinker.

"CONTRIBUCION AL CONOCIMIENTO DE LA ICTIO-FAUNA Y ALGUNOS PARAMETROS FISICOS DEL LAGO BUDI.

(A contribution to the knowledge of ictiofauna and other physical parameters of the Budi Lake).

AIDA, L., RIOS, D., CATALAN, J., LOBOS, J.C., PLAZA, R.  
Depto. Ciencias Agronómicas Básicas, Fac. Ciencias Agropecuarias de la Universidad de la Frontera.

El Lago Budi ubicado a 88 Km al oeste de Temuco presenta características muy particulares con respecto a sus parámetros físicos. Esto hace que exista una ictiofauna poco común a los demás lagos del Sur de Chile.

En este trabajo se entrega una visión general y preliminar de algunos de los peces que se encuentran en el Lago Budi. Junto con ello se midieron parámetros físicos tales como: T° del agua (°C), transparencia (cm) mediante disco Secchi, nivel del agua (m) por medio de limnómetro y pluviometría (mm) con un pluviómetro.

Las especies encontradas en este fueron 9: Microprogon manni (roncador), Mugil cephalus (lisa), Eleginops maclovinus (Robalo), Engraulis ringens (Anchoveta), Cyprinus carpio (Carpá), Salmo gairdnerii gairdnerii (Trucha cabeza de acero), Austromenidia regia (Pejerrey), Basileichthys australis (Pejerrey), Hippoglossina sp. (Lenguado).

En la época invernal las T° del agua fluctuaron entre 10° y 12° C. aumentando éstas hacia la época estival la penetración de la luz fue menor en los meses de invierno ascendiendo hacia el verano. El nivel de agua presentó drásticas fluctuaciones en el invierno, debido a las precipitaciones que lo aumentan. Este mayor nivel debe ser evacuado mediante desagües artificiales, lo que impide el anegamiento de los poblados ribereños. En el verano se produjo un descenso normal del nivel de agua.

De los peces encontrados, Lisa pejerrey y otros se capturan durante todo el año, en cambio la trucha cabeza acerada sólo en la primavera. La presencia o ausencia estacional de los peces se discute en relación a las características físicas del lago estudiado.

CAMBIOS NUCLEARES DURANTE EL CRECIMIENTO INDUCIDO POR ISOPROTENEROL Y DURANTE LA REGRESION EN CELULAS ACINARES DE PAROTIDAS DE RATON (Nuclear changes during the isoproterenol-induced growth response and during regression in mouse parotid acinar cells). Alliende, C.; Díaz, H.; González, M.J. y López Solís, R.O. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los núcleos de las células acinares de las glándulas parótidas de ratón adulto en reposo proliferativo son diploides (70%) o tetraploides (30%). La estimulación crónica una vez al día con isoproterenol provoca síntesis de DNA-mitosis durante los primeros 5 días y un marcado crecimiento glandular y celular por hasta 12 días. Un cese de la estimulación produce una rápida (10 días) regresión de los parámetros de tamaño celular y glandular. En el presente estudio se analiza la evolución de parámetros nucleares de las células acinares en condiciones de estimulación crónica por isoproterenol y en condiciones de regresión a tamaños celulares normales.

La estimulación crónica con isoproterenol provoca un aumento progresivo en el contenido de DNA nuclear, tamaño nuclear, número de nucleólos y proteínas C23 y B23, previamente relacionadas a la actividad de los citosomas ribosomales. En condiciones de regresión, el número de nucleólos retorna a valores controles pero, a diferencia de otros componentes celulares como son gránulos de secreción y una familia de polipéptidos inducidos por isoproterenol, los núcleos no experimentan involución de tamaño ni de contenido de DNA. Por el contrario, a largo plazo (3 meses), la glándula posee células con tamaño y contenido de DNA nucleares correspondientes a una población normal. Estos datos sugieren que en este período ocurriría una sustitución de los tipos celulares poliploides por nuevas células.

Proyecto DIB B-2366, Universidad de Chile

FRAGILIDAD CROMOSOMICA EN LINFOCITOS DE PACIENTES CON CARCINOMA GASTRICO NO TRATADO. (Chromosome instability in untreated patients with gastric carcinoma.) Alliende, M.A. y Aranda, M. Unidad de Genética, INTA, U. de Chile y Escuela Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile.

Desde 1960 en que Nowell y Hungerford identificaron el cromosoma de Philadelphia como marcador característico y consistente de la Leucemia Mieloide Crónica, se han encontrado otros marcadores cromosómicos relacionados con procesos neoplásicos. Recientemente se ha identificado a la trisomía 8 y 9 y un isocromosoma Bq como marcadores específicos de las células tumorales de algunos carcinomas gástricos.

A pesar de que el cáncer gástrico continúa siendo la entidad neoplásica que determina mayor mortalidad en Chile no existen estudios citogenéticos que revelen la constitución cromosómica de los tumores gástricos ni tampoco estudios en linfocitos de sangre periférica de pacientes con esta enfermedad.

Hemos iniciado un estudio en linfocitos de sangre periférica de 16 pacientes con cáncer gástrico avanzado no tratado. El análisis de cambios estructurales se determinó por bandeó Tripsina-Giemsa y bandeó C, de a lo menos 50 metafases por paciente. Los resultados muestran una inestabilidad cromosómica significativamente mayor en estos pacientes al compararlos con los controles, detectándose un aumento de la fragilidad inespecífica principalmente en autosomas.

Aunque hay numerosas evidencias del rol de los factores ambientales en la causa del carcinoma gástrico, estos marcadores cromosómicos también podrían estar reflejando mecanismos genéticos que determinen la susceptibilidad a desarrollar la enfermedad.

Financiado por DICYT, Univ. de Santiago de Chile, Proyecto 10-85-74 A1.

DISTRIBUCION DE LA DEPREDACION FOLIAR DENTRO Y ENTRE INDIVIDUOS DE LA ESPECIE LEÑOSA DIOICA Salix cinerea. (Distribution of leaf predation within and between trees of the woody dioecious species Salix cinerea). Alliende, M.C. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas. Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación.

La cantidad de daño a hojas de Salix cinerea fue evaluada en dos años sucesivos en una población silvestre del norte de Gales (Gran Bretaña). Los efectos del estado sexual (masculino, femenino y juvenil), intensidad de floración, sombreado del dosel, orientación de la brújula, peso específico de la hoja y distancia al vecino más cercano fueron examinadas.

- 1) Existen diferencias significativas en la intensidad de predación en los dos años consecutivos.
- 2) Las hojas de árboles masculinos sufrieron más daño que las femeninas o juveniles.
- 3) Las hojas de parte sombreadas del dosel sufrieron más daño que las partes no sombreadas, mientras que la orientación de la brújula no tuvo efecto.
- 4) La intensidad de floración tuvo un efecto significativo, aunque complejo en los grados de predación sufridos por las hojas.

CALIBRES Y MICROTUBULOS AXONALES DE UN NERVIÓ COMPRESO CRONICAMENTE. (Axonal calibers and microtubules of a chronically compressed nerve). Alvarez, P. Laboratorio de Neurocitología, Fac. Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: Hoffmann, A.).

Para cada calibre axonal hay una densidad microtubular característica. La compresión de un nervio provoca una reducción del calibre axonal. En esta condición estudiamos el contenido microtubular.

En ratas en crecimiento (100g) se colocó un manguito de silastix que quedaba holgado en el ciático de un lado, para limitar el crecimiento del nervio. Luego de 14 semanas (peso: 500g), las ratas presentaban alteraciones de la extremidad. Se sacrificaron y ambos nervios se estudiaron con el microscopio electrónico.

Los axones mielínicos del lado normal median  $11.6 \mu m^2$ . Cuatro y dos mm por encima de la estrangulación median  $9.8$  y  $6.8 \mu m^2$  respectivamente y por debajo,  $3.5 \mu m^2$ . Esto indica un efecto retrógrado de la estrangulación además del anterógrado. Los axones amielínicos no mostraron alteración de calibres. La densidad microtubular para iguales calibres, era comparable en el lado tratado y control.

Se concluye que una reducción de calibre determina una nueva densidad microtubular. Se propone que los microtúbulos disponibles especifican el calibre del axón.

DESCARBOXILASA DIFOSFOMEVALONICA DE HIGADO DE POLLO: EVIDENCIA DE DOS PARES DE DITIOLES FUNCIONALES (Chicken liver decarboxylase 5-diphosphomevalonate: evidence of two functional vicinal dithiols). Alvear, M. y Cardemil, E. Departamento de Química, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile.

Hay evidencias cinéticas que indican que dos grupos sulfhidrilos por unidad activa de enzima son los responsables de la inactivación de la descarboxilasa difosfomevalónica, cuando ésta es tratada con metilmetanotiosulfonato, un reactivo específico para grupos SH. Por otra parte, experimentos preliminares con reactivos específicos para ditioles vecinos ( $\text{Cd}^{+2}$ , arsenito de sodio en presencia de 2,3-dimercaptopropanol, diamida y óxido de fenilarsénico (OFA) indican que la enzima es inactivada por éstos.

Para la caracterización cinética del ditiole vecino se utilizó el OFA, reactivo que inactiva a la enzima siguiendo una cinética de pseudo primer orden el rango de concentraciones ensayadas, indicando una reacción irreversible entre la enzima y 2 moléculas del modificador. A pH 7,0 la constante de tercer orden para la reacción se estimó en  $1,08 \times 10^{-3} \pm 1,00 \times 10^{-5} \mu\text{M}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$ . Hay reversión de la inactivación cuando la enzima parcialmente inactivada es tratada con ditiotritol. Tanto ATP como MVA-PP protegen efectivamente a la enzima de la inactivación. Por último fue posible determinar el pKa de los grupos ditioles vecinos el que tiene un valor de  $7,6 \pm 0,3$ .

Por consiguiente, los resultados presentados sugieren que la enzima posee dos pares de grupos ditioles vecinos en las proximidades del sitio de unión de los sustratos.

CARACTERIZACION DE LA LIPOPROTEINA DE ALTA DENSIDAD DE SUERO DE CARPA. (Characterization of the high density lipoprotein of carp serum). Amthauer, R., Concha, M., y Villanueva, J. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.

Para contar con un marcador que nos permita estudiar la expresión génica durante aclimatación hemos examinado las características de la proteína sérica más abundante del pez *Cyprinus carpio*. Contrariamente a lo descrito originalmente como albúmina, hemos confirmado que la proteína corresponde a una lipoproteína de alta densidad, cuyas propiedades para unir colorantes han sido utilizadas en el diseño de un procedimiento de purificación por cromatografía de afinidad.

El fraccionamiento del suero de carpa por ultracentrifugación a los intervalos de densidad clásicamente definidos para lipoproteínas humanas, mostró que la fracción HDL representa el 30% de la proteína plasmática, en tanto que las fracciones de VLDL y LDL no superan el 0.3%. El análisis electroforético en gel de agarosa al 1% y posterior tinción con "Oil Red" reveló que en el suero de la carpa existe una sola banda de lipoproteínas con movilidad idéntica a la de HDL fraccionada por ultracentrifugación y a la purificada por columna de afinidad. Ambas preparaciones de HDL muestran dos cadenas polipeptídicas en un gel de poliacrilamida-SDS de peso molecular 29.500 y 12.000. Estas apolipoproteínas se purificaron por cromatografía de filtración usando 8 M urea en el tampón de elución.

Tanto por peso molecular como por composición de aminoácidos ambas proteínas son semejantes a las apolipoproteínas AI y AII de las HDL de mamíferos.

Financiado parcialmente con fondos de los Proyectos : 160/87 FONDECYT, RS-86-29 DIUACH y OEA.

ANTAGONISMO DE TOLERANCIA Y DEPENDENCIA MORFINICAS POR BLOQUEADORES DE CANALES DE CALCIO. (Antagonism of tolerance-dependence to morphine by calcium channel antagonists). Amigo, M., Tamayo, L. Departamento de Ciencias Fisiológicas (Farmacología), Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

Es ampliamente conocida la interacción del calcio iónico con los efectos agudos y crónicos de morfina, habiéndose demostrado que el calcio antagoniza la analgesia y que la morfina produce cambios en la concentración de este ión en el sistema nervioso central (SNC). En este trabajo se estudia la influencia de algunos bloqueadores de calcio en desarrollo de tolerancia y manifestaciones de dependencia física en el ratón.

A diferentes grupos de ratones se les administró nifedipina, verapamil y diltiazem durante el desarrollo de tolerancia, determinándose sus efectos sobre la intensidad de este proceso mediante dosis test de morfina ensayadas por el procedimiento de hot plate. Los efectos de los antagonistas sobre las manifestaciones de dependencia física se estudiaron en ratones tolerantes-dependientes a los que se les inyectó naloxona para inducir un síndrome de abstinencia.

La intensidad de la tolerancia fue atenuada mediante la administración de nifedipina y verapamil. El diltiazem produjo una disminución leve que no alcanzó niveles significativos. Los tres fármacos ensayados en la intensidad de abstinencia indujeron un efecto inhibitorio sobre gran parte de los signos de dependencia física.

Los resultados muestran que la inducción de tolerancia y dependencia puede ser inhibida mediante la administración de antagonistas de canales de calcio, cuya acción estaría relacionada con la liberación de neurotransmisores en SNC.

Proyecto 20.33.29 de Dirección de Investigación, Universidad de Concepción.

MOTILIDAD GASTRODUODENAL Y VACIAMIENTO GASTRICO DE LIQUIDOS EN PERROS. (Gastrointestinal motility and gastric emptying of liquids in dogs). Angelo S., Defilippi C, Dpto. Fisiol y Biof, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El VG de los líquidos depende de la presión del estómago proximal y la resistencia antropilórica y duodenal.

Las soluciones ácidas e hiperosmóticas modifican la velocidad de VG pero no se ha determinado su efecto sobre los mecanismos postulados. El objetivo de este estudio fue investigar el efecto de soluciones ácidas, isosmóticas, e hiperosmóticas sobre la presión del estómago proximal y la motilidad duodenal y analizar la importancia de estos factores en el control del VG.

En 12 perros se estimó el VG instilando en el estómago HCl 80mM; glucosa 850mM y NaCl 154mM, midiendo el volumen remanente gástrico a los 10 minutos. Simultáneamente se registró la presión del estómago proximal y la motilidad duodenal.

La instilación de los líquidos produjo disminución de la presión intragástrica total y aumento de la motilidad del duodeno proximal. El tono basal gástrico disminuyó con el ácido y la glucosa. Con NaCl se obtuvo una correlación inversa entre el tono basal y el volumen remanente gástrico, similar resultado se obtuvo al correlacionar la motilidad del duodeno proximal, se observó además una relación directa entre la motilidad del duodeno distal y el volumen remanente gástrico.

El VG de NaCl isotónico depende del tono del estómago proximal y la motilidad duodenal, el VG de soluciones ácidas e hiperosmóticas depende de otros mecanismos probablemente relacionados con la resistencia antropilórica. Financiado por Proyecto M 1353 - 865 F, DIB

Universidad de Chile.

**PENTETRAZOL INHIBE A LA ACETILCOLINESTERASA DE CEREBRO DE RATA** (Pentetrazol inhibits rat brain acetylcholinesterase). Araneda, R. Unidad de Neurobiología Molecular, Depto. Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile, Santiago (Patrocinio: L. Arqueros).

Pentetrazol (PTZ) es una droga convulsivante, cuyo mecanismo de acción sobre el sistema nervioso no se conoce. Sin embargo ciertas evidencias indican que podría alterar el sistema de neurotransmisión colinérgico. En este trabajo hemos estudiado el efecto de PTZ sobre la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE) de cerebro de rata.

Grupos de animales que fueron tratados en forma crónica y aguda con dosis convulsivantes de PTZ (30-50 mg/Kg i.p.) no presentaron alteraciones en la AChE. Se estudió también el efecto de PTZ sobre la enzima purificada por cromatografía de afinidad en columnas de N-metil-acridinium. En este caso la actividad colinesterásica resultó inhibida en forma dosis dependiente por PTZ. Esta inhibición ocurrió con un aumento en el Km aparente y sin modificación de la Vmax. También PTZ fue capaz de desplazar a la AChE previamente unida a la columna de N-metil-acridinium. Finalmente PTZ protegió a la AChE de la inactivación por temperatura.

Estos estudios indican que PTZ se uniría al sitio activo de la AChE donde actuaría como inhibidor competitivo. Esto sugiere que al menos parte de los efectos convulsivantes de la droga podrían estar relacionados con este efecto.

Financiado por FONDECYT 706/87 al DR. N.C. INESTROSA.

**DAÑO PULMONAR POR INSTILACION ENDOTRAQUEAL DE HCl EN LA RATA. ROL DE LAS PLAQUETAS.** (Lung injury by endotracheal instillation of HCl in the rat. Role of platelets). Arenas, G., Novoa, E., Derpich, J., Lathrop M.E., Ferrer, L., Merino, J.A. y Oyarzún M.J. Deptos. Medicina Experimental Norte y Preclínicas Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La instilación endotraqueal de HCl 0.1N (2 ml/kg) produce en el pulmón de rata al cabo de 4 h edema por aumento de permeabilidad y reacción inflamatoria (Mendoza y cols. Arch. Biol. Med. Exper. 19:R 398, 1986).

Las plaquetas han sido involucradas en la patogénesis del daño pulmonar en diferentes modelos experimentales. El objetivo de este estudio fue evaluar el rol de las plaquetas en el daño pulmonar por HCl.

Se instiló HCl o bien NaCl 0.9% en ratas con plaquetas normales o con dos niveles de plaquetopenia: a)  $10^5$  plaquetas/mm<sup>3</sup> y b)  $1-2 \times 10^5$  plaquetas/mm<sup>3</sup> en sangre periférica. La trombocitopenia se indujo inyectando (i.p.) suero antiplaquetario preparado en conejos. Cuatro horas post-instilación se efectuó estudio histológico pulmonar, recuento celular y se determinó proteínas y surfactante (fosfatidil colina disaturada: DSPC) en el lavado bronquioalveolar (LBA). Pre y post instilación de HCl se practicó gasometría arterial.

La instilación de HCl produjo hipoxemia, edema pulmonar, reacción inflamatoria y aumento de proteínas en LBA en las ratas con y sin trombocitopenia. El surfactante (DSPC) aumentó significativamente en las ratas con mayor trombocitopenia instiladas con HCl.

Las plaquetas no jugarían un rol en el daño pulmonar inducido por HCl; sin embargo ellas o alguno de sus componentes podrían jugar un rol en el control del nivel de surfactante durante el daño pulmonar difuso.

Estudio financiado parcialmente por proyecto M-2709-8714 DIB, Universidad de Chile.

**MICROPROPAGACION IN VITRO Y ESTACIONALIDAD EN EL ARRAIGAMIENTO DE ESTACAS EN PROSOPIS CHILENSIS.** (In vitro micropropagation and seasonality in rooting of *Prosopis chilensis*). Arce, J.P.\* y Balboa, G. Laboratorio de Botánica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. Santiago\* (Patrocinio: G. Montenegro).

Capacidad de arraigamiento de estacas y su relación con el estado fenológico y parámetros ambientales, fue estudiado en *Prosopis chilensis*. Se encontró en material obtenido directamente de terreno, que en los meses de mayor actividad de crecimiento y diferenciación (Septiembre a Marzo), se puede inducir arraigamiento de estacas, aunque en porcentajes no superiores al 15%. Esta respuesta, no se consigue en el período de receso en el crecimiento, caracterizado por la caída de las hojas (Mayo a Septiembre). Sin embargo, al utilizar estacas de plantas propagadas que crecen en maceta en invernadero, se obtienen porcentajes superiores al 80% en medio líquido aireado.

Micropropagación in vitro de material juvenil y adulto, también fue ensayado en *P. chilensis*. Los resultados más relevantes muestran que en material juvenil, se obtiene un 80% de regeneración de plantas completas en medio Murashige y Skoog modificado con 5 mg/l de ANA (ácido naftalenacético) y 10 mg/l de cisteína. En este medio, la respuesta regenerativa obtenida en segmentos de estacas arraigadas fue de 60%.

Proyecto FGT-CL-2-83-31 financiado por la U.S. National Academy of Sciences/AID.

**DETERMINACION DE BIOTIPO DE SCHIZAPHIS GRAMINUM Y SU CONDUCTA ALIMENTICIA.** (Determination of *S. graminum* Biotipo and its feeding behavior). Argandoña, V.H. y Zúñiga, G.E. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

*S. graminum* es un áfido que se encuentra en plantas ornamentales, gramíneas silvestres y cultivadas en las cuales provoca daño. Debido a su amplio rango de hospederos es factible esperar cierta variabilidad genética. Se ha reconocido la existencia de 4 biotipos de *S. graminum* con conductas alimenticias características. En este trabajo se aportan evidencias para identificar la presencia del biotipo C en poblaciones de áfidos colectadas en la región metropolitana. El método de identificación de los biotipos se basa en la respuesta de los áfidos frente a los diferentes hospederos y el estudio de sus conductas alimenticias. Cultivares de cebada y sorgo fueron infestados con poblaciones similares de *S. graminum*. Se encontró que la tasa de crecimiento poblacional fue más alta en los cultivares F. Unión (cebada) y VONA (sorgo). Se obtuvo una correlación negativa entre la tasa de crecimiento poblacional y la cantidad de Gramina incorporada en los vasos conductores de plantas que no poseen este metabolito de defensa, en forma natural. El estudio sobre conducta alimenticia utilizando monitores eléctricos indica que este áfido se alimenta preferentemente del contenido de los vasos conductores.

Estas evidencias permiten sugerir que las poblaciones de áfidos estudiados corresponden al biotipo C. Financiado por Universidad de Chile (N-1654-8755) y FONDECYT (1012-86).

RELACION ESTRUCTURA-FUNCION EN EL COMPORTAMIENTO TOXICO DE LAS FOSFOLIPASAS A<sub>2</sub> DE VENENOS DE SERPIENTES. (Structure-function dependence of the toxic behaviour of snake venom phospholipases A<sub>2</sub>). Arriagada, E. Depto. de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción.

Recientemente, hemos propuesto que las fosfolipasas A<sub>2</sub> (PA<sub>2</sub>) de veneno de serpiente con acción tóxica pertenecientes al Grupo I, presentan un sitio neurotóxico localizado en la región 58-65, y un sitio miotóxico en la región 90-95. En ambos sitios, juegan un papel preponderante los residuos Lys. Se ha informado que las PA<sub>2</sub> del llamado Grupo II (Crotalidae y Viperidae) que presentan actividad neurotóxica, poseen sus residuos básicos en regiones que difieren sustancialmente respecto a las enzimas del Grupo I.

Con el objeto de establecer la probable ubicación de los "sitios tóxicos" de las PA<sub>2</sub> presinápticamente activas pertenecientes al Grupo II, se hizo la predicción de la estructura secundaria de un grupo representativo de ellas. Se comparó las estructuras propuestas con PA<sub>2</sub> del Grupo I con actividad tóxica similar. El método de predicción utilizado fue el de los perfiles de hidrofobicidad.

Los resultados obtenidos permiten proponer un sitio neurotóxico de las PA<sub>2</sub> pertenecientes al Grupo II diferente al de las enzimas del Grupo I. Hay diferencias estructurales significativas entre las enzimas de ambos grupos, causadas por la ubicación de los residuos básicos y de cisteínas, que permiten además, visualizar una relación entre las actividades neurotóxica y miotóxica.

Proyecto 20.31.12, DIC. Universidad de Concepción.

DISTRIBUCION Y ABUNDANCIA DE DIMORFISMO SEXUAL EN LA FLORA ANDINA PATAGONICA EN RELACION A RIGUROSIDAD AMBIENTAL. (Distribution and abundance of sexual dimorphism in the andean flora of Patagonia in relation to habitat harshness. Arroyo, Mary I. K., Jimenez, M., Miranda, P y Landero A, Fac. Ciencias, U. de Chile y U. de Concepción.

De este a oeste en las cordilleras de la Patagonia, se observa una disminución de temperatura, vientos de mayores velocidades y suelos más pobres al acercarse al Campo de Hielo Patagónico Sur. Se estudió la incidencia y abundancia de especies dioicas, subdioicas y ginodioicas sobre los 700 m, a intervalos de 100 m de elevación en cuatro localidades (Sierra de los Baguales, Cerro Donoso, Cerro Diente y Cerro Agudo), ubicadas a los 50°S, a diferentes distancias del campo de hielo.

Hubo aumentos significativos en la incidencia y abundancia de dimorfismo sexual de este a oeste en la flora zonal y azonal, y de menor a mayor altura en cada cerro. Tanto la incidencia como la abundancia de dimorfismo sexual estuvieron negativamente correlacionados con la riqueza de especies y nitrógeno disponible en el suelo. Aumentó el dimorfismo sexual contra la gradiente de polinización (tasa de visita).

Los resultados para las cordilleras patagónicas llenan el vacío de información para latitudes altas del Hemisferio Sur. Se puede concluir que el dimorfismo sexual en las plantas está sobre-representado en las latitudes altas relativo a las medias, y hasta mejor representado en las altas relativo a las latitudes tropicales. Se plantea que las latitudes bajas y altas convergen debido a efectos selectivos equivalentes de ciertos factores abióticos (en las latitudes altas) y factores bióticos (en las latitudes bajas).

FONDECYT 1389 (M.T.K.A.); DIB, U. Chile N1755-8745 (M. T. K. A.) y National Geographic Society (M. T. K. A.)

VIAS NEURONALES PROVENIENTES DE RECEPTORES SENSORIALES EN EL MUTANTE YELLOW DE Drosophila melanogaster. (Neural pathways originated from sensory receptors in the Yellow mutant of Drosophila melanogaster). Arriagada, J.R. Unidad de Neurobiología Molecular, Depto. de Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile, Santiago.

Numerosos estudios han demostrado que determinadas mutaciones en D. melanogaster alteran la organización espacial de los receptores ubicados en la periferia del insecto lo que a su vez determina cambios morfológicos en los terminales sensoriales en el SNC. Otras mutaciones, en cambio, se expresan fenotípicamente en forma menos drástica pero pueden evocar cambios conductuales importantes sin que se conozcan las vías neurales involucradas.

En el presente trabajo se han estudiado, por marcaje intraaxonal con HRP, las vías centrales provenientes de receptores ubicados en el ala de moscas silvestres (Oregon R-C) y en mutantes Yellow que junto con presentar cambios en la pigmentación de la cutícula, tiene alteraciones en la conducta del cortejo, fenómeno que requiere de un sofisticado repertorio sensorial para su normal desarrollo.

Resultados preliminares no muestran cambios significativos en la localización, número y tamaño de los receptores estudiados y su marcaje intraaxonal con HRP no muestra cambios a nivel de las distintas proyecciones sensoriales centrales.

Financiado por Fundación Gildemeister, Dr. N.C. INESTROSA.

CAPACITACION ESPERMATICA Y REACCION ACROSOMICA IN VITRO: ASOCIACION  $\beta$ -AGONISTA - EFECTORES DE MEMBRANA. (In vitro sperm capacitation and the acrosome reaction:  $\beta$ -agonists and membrane-effectors association). Avendaño, C. Unidad Biología de la Reproducción, INTA, Universidad de Chile. (Patrocinio: L. Valladares).

Estudios preliminares vincularon a  $\beta$ -agonistas con los procesos de capacitación (CAP) y reacción acrosómica en espermatozoides de hamster; probablemente por su relación con efectores de membrana ( $\beta$ -receptores/fosfolipidometiltransferasas/sistema adenilato ciclasa). Este trabajo intenta dilucidar la posible interrelación entre estos efectores y su actividad molecular en dichos procesos. Así, espermatozoides epididimarios se incuban a 37° C, en atmósfera húmeda (95% aire/Co<sub>2</sub> 5%) en presencia del  $\beta$ -agonista y de activadores directos del sistema adenilato ciclasa (ADAC) (1); presencia o ausencia del  $\beta$ -agonista más inhibidores de reacciones de transmetilación (IRT) y ADAC ó análogos de AMPc (aAMPc), evaluándose los parámetros de motilidad hiperactivación, y RA a diferentes períodos de incubación. Se mide además, la incorporación de grupos (3H-metil) radiactivos a la fracción lipídica de los espermatozoides incubados, en presencia de (3H-metil) metionina. Los resultados indican en (1) un anticipado aumento de las RA, sugiriendo una participación activa y sinérgica de los efectores comprometidos. En (2), IRT inhibe significativamente las RA a pesar del  $\beta$ -agonista, efecto eso sí que es eludido por ADAC y aAMPc. Se discute una actividad pleiotípica del  $\beta$ -agonista, la que abarca no sólo reacciones de transmetilación de fosfolípidos y activación del sistema adenilato ciclasa, sino que también otros sistemas transductores, probablemente apertura de canales iónicos y/o aumento del metabolismo de polifosfoinositidos, actualmente en estudio.

Estudio financiado por Proyecto DIB. # B 2396/8723 y parcialmente Proyecto FONDECYT #510 y OMS Grant 83010.

DEPENDENCIA TERMICA DE *Tropidurus quadrivittatus*, Lacerilia-Iguanidae. (Thermal dependency of *Tropidurus quadrivittatus*, Lacertilia-Iguanidae). Báez, C. Departamento de Biología Universidad de La Serena. (Patrocinio: C. Palma).

*T. quadrivittatus* (T.q.), habita en las zonas rocosas de la costa del norte de Chile (19-21°LS), presentando actividad durante la mayor parte del año. Estos antecedentes, sugieren que T.q., presentaría mecanismos de termorregulación conductual y fisiológica similar a especies de baja termofilia.

Los aspectos estudiados fueron: Temperatura de actividad (ATE) y preferencial (PTB), velocidad de calentamiento y enfriamiento, y metabolismo estándar (SMR).

Los resultados muestran: 1) Los ATB de verano e invierno son  $36.0 \pm 1.20$  y  $34.0 \pm 1.79$ °C. 2) Los PTB de verano e invierno son:  $36.6 \pm 1.70$  y  $36 \pm 1.10$ °C. 3) Las velocidades de calentamiento y enfriamiento son:  $0.87$ °C/min. y  $0.50$ °C/min. 4) El SMR vs peso corporal (W) está relacionado por las ecuaciones:  $M=0.082W^{0.08}$ ,  $M=0.16W^{0.79}$ ,  $M=0.25W^{0.81}$ , obtenidos a temperaturas ambientales (TA) de 15, 25 y 30°C, respectivamente. 5) El SMR vs TA es definido por la ecuación:  $M/W^{0.8} = 0.025 10^{0.033 TA}$

El análisis de los resultados sugieren que T.q. es un lagarto con una termofilia relativamente baja, condición que favorecería a una mayor independencia térmica.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE LA DNA METILASA DEL SISTEMA DE RESTRICCIÓN-MODIFICACION BstUI. (Isolation and characterization of DNA methylase from BstUI restriction and modification system). Barra, R. y González, E. Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Se ha aislado una actividad enzimática responsable de la transferencia de grupos metilo desde S-adenosilmetionina a DNA de doble hebra en *B. stearotherophilus*. Esta DNA metilasa es detectada durante la fase de crecimiento exponencial temprano de tales bacterias. La enzima ha sido purificada más de 100 veces mediante cromatografía de intercambio iónico y afinidad. Se ha estimado un peso molecular de 43.000 (filtración en gel). Las condiciones de incubación más favorables se establecieron en pH 8,0 y 50°C. La enzima no requiere cofactores y la mayor actividad se obtiene en presencia de KCl 75 mM. Como otras proteínas de origen termofílico, la metilasa purificada es resistente a incubación en condiciones desnaturalantes (Triton X-100 5%, Formamida 10% o urea 0,5M).

La enzima aislada no transfiere grupos metilo a DNAs que no posean sitios de reconocimiento para la endonucleasa de restricción BstUI (pBR322). Moléculas de DNA previamente metiladas por la metilasa purificada son protegidas de la digestión por BstUI. Estos resultados indican que ambas enzimas reconocen la misma secuencia de bases en el DNA (CTCGAG), determinándose que la adenina (A) es la base receptora del grupo metilo transferido. Se concluye que la actividad metilante purificada corresponde a la enzima modificadora del sistema de restricción-modificación de *B. stearotherophilus*, denominándose en adelante metilasa BstUI (M BstUI).

Financiado por DIB B 2318 8723 (U. de Chile) e IFS E/834-1.

PATRONES DE DISTRIBUCION ESPACIAL EN RELACION CON ALIMENTACION EN *Drosophila*. (Spatial distribution patterns with regard to feeding in *Drosophila*). Barrientos, U., Del Pino, F. y Godoy Herrera, R. Depto. Cs. Bs., IPRUCH y Depto. Biol. Cel. y Genét. Fac. Med. Universidad de Chile.

Poco conocidos son los mecanismos conductuales utilizados por moscas de *Drosophila* en repartición de recursos tales como alimento. Nosotros demostraremos que moscas de *D. melanogaster* y *D. simulans* presentan diferencias importantes cuando efectúan decisiones relativas a alimentación.

Cajas plásticas se llenaron con agar. En el agar frío se practicaron orificios distribuidos regularmente y se llenaron con crema de levadura. Veinte machos ó 20 hembras, con y sin experiencia sexual, de 1 y 7 días, se introdujeron a su respectiva caja y el patrón de distribución espacial se registró cada 10 min hasta 1 hora.

El patrón de distribución de moscas vírgenes y con experiencia sexual de 1 día de *D. melanogaster* es similar, medido por el porcentaje de moscas en la levadura. A la misma edad (1 día) moscas de *D. simulans* tienen un comportamiento similar al de *D. melanogaster*. Pero moscas de 7 días de *D. simulans*, vírgenes o con experiencia sexual, permanecen en la levadura más tiempo que *D. melanogaster*. En general, tanto machos como hembras no vírgenes, de ambas especies, permanecen en el alimento un mayor tiempo que moscas vírgenes.

Los resultados indican que la virginidad y la experiencia sexual, así como la edad, afectan el patrón de distribución espacial en relación con alimento, de *D. melanogaster* y *D. simulans*.

Proy. DIB, U. de Chile B2309-8725; IPRUCH 018/87 y FONDECYT N°1030

RECEPTOR DE EGF Y FOSFORILACION DE PROTEINAS DE CITOESQUELETO EN CELULAS GASTRICAS. (EGF receptor and cytoskeletal protein phosphorylation in gastric glands.) Barriga, C., Prelis, A. y González Plaza, R. Departamento de Química, Universidad de Santiago de Chile.

El EGF inhibe la secreción de HCl y la elaboración del canalículo de la superficie apical de la célula oxíntica por un mecanismo desconocido. La unión de EGF con su receptor induciría al citoesqueleto a permanecer en una configuración de reposo, esto se iniciaría con la fosforilación del propio receptor.

Se tratará de establecer la relación existente entre la fosforilación del receptor de EGF y las proteínas del citoesqueleto.

Glándulas gástricas son aisladas por perfusión, homogenizadas y luego se aísla una fracción de membranas por centrifugación a 100.000g por 40 minutos. La fosforilación del receptor se logra incubando la fracción de membranas, resuspendidas en buffer de gelificación, con ATP- $\gamma$ -P32 y EGF a 37°C por 15 minutos. La estimulación máxima de fosforilación se consigue con 10ug/ml de EGF. En el estudio de la cinética de reacción se hicieron incubaciones de 30 seg. hasta 15 minutos, a 37°C, lográndose una fosforilación máxima del receptor de EGF a los 10 minutos de reacción. La fosforilación de proteínas del citoesqueleto se inicia agregando 20 ul de la fracción de membranas resuspendidas, al sobrenadante de la centrifugación en presencia de ATP- $\gamma$ -P32.

Se ha observado la presencia de una proteína de membrana de 175 Kda. que se fosforila en la presencia de EGF, el que a su vez aumenta la fosforilación de proteínas del citoesqueleto. Probablemente existen otras quinasas de membrana que utilizan las proteínas del citoesqueleto como sustrato, especialmente la actina.

Financiado por DICYT.

RESPUESTA CONFORMACIONAL DE LA  $\beta$ -LACTAMASA I DE *B. CERESUS* (Conformational response of  $\beta$ -lactamase I from *B. cereus*)  
Barros, L. y Cid, H. Laboratorio Biofísica Molecular.  
Depto. de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

$\beta$ -lactamasa I de *B. cereus*, purificada por cromatografía de exclusión (E-I) y por electroforesis preparativa (E-II), presenta un comportamiento cinético y espectros de absorción diferentes, que permiten concluir que la enzima sufre un cambio conformacional por la acción del campo eléctrico. Este cambio conformacional se evidencia al aparecer en el espectro de absorción de E-II un máximo a 275nm, ausente en E-I, y que se explica por la exposición de algunos residuos de tirosina.

Evidencias experimentales demuestran que la conformación de la  $\beta$ -lactamasa I de *B. cereus* es afectada por la interacción con sustratos análogos (sustratos tipo A), interacción que se sabe provoca la exposición de residuos de tirosina, lo que hace, entre otros efectos, que aumente la susceptibilidad a la inactivación por iodo, y que además se refleja en una cinética bifásica. Se estudió el comportamiento cinético de las muestras E-I y E-II en presencia de un sustrato tipo A (oxacilina) y en presencia de dos sustratos tipo S (ampicilina y bencilpenicilina). Los resultados indican que existe una estrecha relación entre el cambio conformacional inducido por el campo eléctrico y el inducido por el sustrato tipo A. Este cambio conformacional puede explicarse en base al modelo de dos dominios que ha sido propuesto para la  $\beta$ -lactamasa clase A, a partir de la predicción de la estructura secundaria.

Proyecto de Investigación 20.31.12 D.I. U. Concepción. Proyecto de Investigación 89/87 FONDECYT.

TAMAÑO DEL CROMOSOMA Y. CORRELACION CLINICA. (Size of the Y chromosome. Clinical correlations)  
Be, C. Servicio de Genética, Hospital Clínico, Universidad de Chile y Clínica Las Condes.

Variación en el tamaño del cromosoma Y se ha observado en distintas razas e individuos. Esta variación es producida por diferencias en la cantidad de heterocromatina presente en la región distal del brazo largo del cromosoma Y, sin que ello aparentemente influya en el fenotipo. Se estudio la incidencia de la cantidad de heterocromatina en grupos de individuos normales y con diversas patologías, midiendo los tamaños del Y y de los cromosomas del grupo F teñidos con bandeó C y G, estableciendo una relación Y/F (Y/xF) en no menos de tres metafases. De un total de 304 varones 104 habían sido referidos por pérdida reproductiva en sus esposas, 38 por infertilidad masculina, 45 por síndrome de Down, 41 por retardo mental inespecífico, 28 por malformaciones congénitas múltiples y 29 por patologías diversas; 19 varones normales forman el grupo control. Para testar la existencia de diferencias intraindividuales de la relación Y/F, se analizó esta relación en 70 metafases de cada uno de dos de los varones normales, encontrándose una diferencia intraindividual muy baja.

El promedio del índice Y/F fué significativamente mayor en los grupos de varones con pérdida reproductiva y con retardo mental inespecífico comparado con el grupo control ( $p < 0.05$ ). En varones con otras categorías diagnósticas no se encontró desviaciones significativas respecto del grupo control. Se realizó una correlación entre nueve pares padre-hijo o hermano-hermano, cuyo índice fué 0.847, lo que indica una correlación positiva y altamente significativa ( $p < 0.005$ ).

GAMMA-HEXAACLOROCICLOHEXANO C-MITOTICO EN MERISTEMAS RADICULARES DE *Chlorophytum comosum*. (Gamma-hexachlorocyclohexano c-mitotic in radicular meristems of *Chlorophytum comosum*). Bastías, J.M.: Guerrero, C. Laboratorio de Citogenética, Departamento de Ciencias Básicas, Instituto Profesional de Chillán. (Patrocinio: R. Godoy-Herrera).

Estudios previos en nuestro Laboratorio han demostrado el efecto genotóxico del gamma-hexaclorociclohexano (Lindano), utilizando a *C. comosum* (Liliaceae) como sistema de ensayo. Los hallazgos revelaron la formación de micronúcleos y aberraciones cromosómicas. Otros trabajos señalan que este compuesto tiene la propiedad de ser c-mitótico. Esto último nos motivó a detectar si Lindano produce el mismo efecto en esta especie vegetal.

Para ello, se indujo el crecimiento radicular de 20 plántulas de *C. comosum* en cámara de cultivo bajo condiciones controladas (luz, temperatura y oxigenación). Al presentar las raíces 2 cm. de longitud se separaron en dos grupos: a) controles; b) tratadas con  $1 \times 10^{-4}$  gr/ml de Lindano por 2 hrs. para luego pasarlas a medio limpio por 3, 6, 12, 24, 48 y 72 hrs. Las raíces se fijaron siendo teñidas con orceína aceto-clorhidrica y cuantificándose las células meristemáticas radiculares.

Nuestros resultados revelan que gamma-hexaclorociclohexano tiene la propiedad de concentrar las células meristemáticas radiculares de *C. comosum* en mitosis especialmente en metafase, además, de producir tabicación celular desigual, lo que concuerda con resultados de otros autores.

CARACTERISTICAS DEL CANAL DE SODIO DE NERVIJO OPTICO DE JIBIA INCORPORADO EN BICAPAS DE LIPIDOS. (Characterization of sodium channels from squid optic nerve into planar lipid bilayers).

Behrens, M. I., Bezanilla, F. Centro de Estudios Científicos de Santiago. Dept. Physiology, UCLA, Los Angeles CA. Facultad de Ciencias, Depto de Biología, Universidad de Chile.

Al fusionar vesículas de nervio óptico de jibia *Sepiotheutis sepioides* con bicapas planas de fosfolípidos se incorporan canales de sodio. Estos fluctúan entre un estado abierto y uno cerrado. La probabilidad de encontrar el canal en estado abierto depende del potencial eléctrico aplicado. En presencia de batracotoxina los canales permanecen la mayor parte del tiempo abiertos a voltajes superiores a -60 mV y están abiertos un 50% del tiempo a -100 mV. La conductancia del canal en 200 mM NaCl es 20 pS y la selectividad a cationes es  $\text{Na}^+ > \text{Li}^+ > \text{NH}_4^+ > \text{K}^+ \gg \text{Cs}^+ \gg \text{Rb}^+$  determinado del potencial de reversión en condiciones biónicas. La tetrodotoxina (TTX) adicionada al lado extracelular del canal provoca un bloqueo dependiente del potencial con una constante de disociación (a potencial cero) de aproximadamente 20 nM. Los valores de las constantes de velocidad de asociación y disociación de TTX con el canal son  $8,2 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  y  $0,015 \text{ s}^{-1}$ . El tiempo promedio de residencia es 70 s.

El comportamiento de este canal es semejante al descrito en canales de axones *in vivo* en presencia de batracotoxina.

Financiado por NIH, proyecto GM 35981 y fundación Tinker.

DESARROLLO TEMPRANO DEL OSTION DEL NORTE Argopecten purpuratus (MOLLUSCA, BIVALVIA).

(Early development of the Scallop Argopecten purpuratus (Mollusca, Bivalvia). Bellojio, G. y Lohrmann, K. Departamento de Biología Marina, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad del Norte. Coquimbo.

El Ostión del Norte, A. purpuratus es una especie de importancia comercial cuyo cultivo masivo es bien conocido, así como su ecología. Sin embargo, la literatura sobre el desarrollo de los pectínidos es escasa. Es por esto que el presente estudio realiza una descripción de la aparición cronológica de las estructuras que llevarán a conformar el individuo juvenil y así obtener un patrón de desarrollo normal que permitirá comparar con posteriores estudios experimentales los factores que alteran dicho desarrollo.

Se utilizaron embriones y larvas provenientes de cultivos masivos bajo condiciones de ambiente controlado. Se fijaron en glutaraldehído al 2% en agua de mar con cacodilato de Na 0,025 M. Se secaron en secador de punto crítico, se sombreamon con Au y se observaron en MEB.

Al comienzo del desarrollo embrionario se observa la formación de lóbulo polar en las primeras divisiones de clivaje. Algunos eventos relevantes en el desarrollo de este pectínido son: la formación temprana de la glándula de la concha, la formación de la prototroca, que se convierte gradualmente en el velo; la membrana vitelina que se va perdiendo poco a poco y se encuentra presente hasta larva velígera.

Este es un trabajo preliminar para conocer bien los distintos estados del desarrollo. El objetivo posterior es confeccionar una tabla de desarrollo e iniciar estudios de linaje celular, de gran importancia en una especie que se cultiva en forma masiva.

PROPIEDADES CINÉTICAS Y POSIBLE ROL FISIOLÓGICO DE LA ARGINASA EN EL MÚSCULO DE Chiton latus (Properties and possible physiological role of arginase in the muscle of Chiton latus). Juan Bidart, Andrés Rojas y Oscar León. Departamento de Biología Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción.

En el músculo del pie del molusco marino Chiton latus (Polyplacóphora), se detectó una importante actividad arginásica (3.5 unidades/g peso húmedo). La enzima se purificó parcialmente y se caracterizó.

A diferencia de la enzima de otras especies, la arginasa de Ch. latus presenta un peso molecular de 79.000, el que correspondía a una molécula dimerica. Las constantes de Michaelis para la arginina fueron iguales a 25 mM y 3 mM, a pH 7,5 y 9,5 respectivamente. A pH 9,5 la enzima es inhibida por concentraciones altas de arginina.

Al igual que otras arginasas, la enzima de Ch. latus requiere de un metal activador para ejercer su acción catalítica, y el requerimiento de metal puede ser satisfecho por el  $Mn^{2+}$  y, en un grado mucho menor por el  $Co^{2+}$ , el  $Ni^{2+}$  y el  $Cd^{2+}$ .

Los aminoácidos ornitina, lisina, leucina, valina e iso-leucina inhiben a la enzima, presentando los aminoácidos ramificados en mayor grado de inhibición.

En el músculo de Ch. latus no se detectó actividad de octopina de deshidrogenasa, y se sugiere que la arginasa reemplaza a esta enzima en su función de desplazar la reacción catalizada por la arginina quinasa hacia la formación de arginina y ATP.

Proyecto 20.31.19 DIC, Universidad de Concepción.

DOS SISTEMAS GABAÉRGICOS EN EL OVIDUCTO DE RATA?. (Are there two GABAergic system in the rat oviduct?).

Belmar, J., Hidalgo, P., Díaz, F. y Porray, M.I. Lab. Farmacología-Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La presencia y la relevancia funcional como neurotransmisor del ácido gamma-amino-butírico (GABA) en órganos periféricos ha sido ampliamente estudiada en los últimos años. En el oviducto de rata la presencia de altos contenidos de GABA, de las enzimas relacionadas con su metabolismo, y de sus receptores ha sugerido la existencia de un sistema GABAérgico. Sin embargo, la ubicación de GABA en células epiteliales secretoras ha puesto en duda su rol de neurotransmisor. A fin de definir su rol neurobiológico, el cual está bajo control endocrino, hemos estudiado en el oviducto, el contenido de GABA durante el desarrollo, el ciclo estral y su liberación inducida por  $K^+$  durante Estro (E) y Diestro (D). Usando cámaras estanco se midió la liberación de GABA endógeno y se comparó con la de noradrenalina (NA). Los niveles de GABA, el GABA y la NA liberados se midieron por HPLC con detección fluorométrica (GABA) y potenciométrica (NA). Los niveles muy bajos de GABA en los días post-parto aumentaron al décimo día, luego decayeron y aumentaron gradualmente para alcanzar a los 40 días los niveles reportados en rata adulta. Los más altos niveles de GABA se encontraron en el Proestro. El  $K^+$  y el  $Ba^{++}$  indujeron un aumento de la liberación basal de NA dependiente de  $Ca^{++}$ , sin que en estas condiciones se modificara la liberación basal del GABA.

Los resultados sugieren para GABA un papel distinto al de un neurotransmisor, aún no definido para las funciones del oviducto. Probablemente ello refleja el predominio de un sistema GABAérgico epitelial, aunque no descartamos la presencia de un sistema GABAérgico de origen neuronal.

Financiado con Proyecto DIUC 75/86.

AUTOANTIGENOS DEL ESPERMATOZOIDE MURINO INVOLUCRADOS EN FECUNDACION. (Murine Spermatozoal Autoantigens Involved in Fertilization). Blanco, L.P. Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: Dr. Alfredo De Ioannes).

La maduración sexual en los mamíferos machos es posterior a la maduración del sistema inmune. Por lo tanto existen proteínas en el espermatozoide que son potenciales autoantígenos. Es posible inducir autoinmunidad contra proteínas del espermatozoide en el modelo ratón, lo que permite conocer proteínas que deben cumplir una función propia del espermatozoide y que pueden eventualmente ser análogas en la especie humana y por ende participar en las patologías desarrolladas por algunos individuos con infertilidad idiopática.

En nuestro laboratorio obtuvimos dos hibridomas productores de anticuerpos monoclonales dirigidos contra autoantígenos del espermatozoide murino, denominados SP-4D3 y VASEC-269. SP-4D3 se originó de la fusión entre células NS0/2 y linfocitos esplénicos de un ratón hembra Balb/c inactivada con espermatozoides humanos. El hibridoma VASEC-269 se obtuvo de la fusión de células NS0/2 y linfocitos esplénicos provenientes de un ratón Balb/c autoinactivado por vasectomía. Ambos anticuerpos dan reacción cruzada con espermatozoides humanos y de hamster.

SP-4D3 está dirigido contra un componente acrosomal. Se ha observado que la incubación de espermatozoides en medio capacitante, disminuye la fluorescencia acrosomal generada por este anticuerpo en una parte de la población de espermatozoides; la cual podría corresponder a espermatozoides que están reaccionando. El anticuerpo SP-4D3 podría utilizarse como marcador de la reacción acrosómica. Estamos estudiando el papel biológico del autoantígeno en ensayos de fecundación *in vitro* en presencia del anticuerpo.

Por otra parte, VASEC-269 está dirigido contra un autoantígeno que se expresa en la porción principal de la cola de espermatozoides previamente capacitados.

Ambos anticuerpos son herramientas valiosas para determinar los mecanismos a nivel molecular que participan en la fecundación de mamíferos y en el diagnóstico de pacientes con infertilidad.

Financiado por Grant IDRC 3-P-83-1006-01.

EFFECTOS DE ATRIOPEPTINA Y RENINA SOBRE EL FLUJO Y TRANSPORTE DE MACROMOLECULAS EN LA MICROCIRCULACION. (Effects of atriopeptin and renin on microvascular flow and transport of macromolecules). Borić, M., Gaudi, G., Albertini, R. y Durán, W. UMDNJ-New Jersey Medical School y P. Universidad Católica de Chile.

La permeabilidad vascular a macromoléculas depende de factores hemodinámicos como presión y flujo microvascular, y además es modulada por agentes inflamatorios como la bradicinina (BK). La posible participación de la atriopeptina (ANF) en estos procesos y su interacción con el sistema renina-angiotensina, se estudiaron en la mejilla de hamster superfundida, con observación por microscopía intravital de fluorescencia y registro video-gráfico.

El transporte macromolecular se midió por la depuración plasmática de dextrano fluorescente de 150.000 daltons (CL-FITC-Dx). El flujo sanguíneo local se midió según la velocidad de eritrocitos y el diámetro arteriolar (correlacionador de doble ventana y monitor de desplazamiento), o mediante la depuración plasmática de Cr 51-EDTA. ANF (10-500ng/ml) o BK (0.2-1.0 µg/ml) se aplicaron tópicamente en condiciones control o durante la infusión de renina (Inf-Ren) (10 mU/hr/kg iv).

Inf-Ren aumentó la presión sistémica (35%) y CL-FITC-Dx (100%) junto a una reducción del diámetro arteriolar (10%), pero sin cambio en el flujo volumétrico, ni aparición de sitios discretos de escape (SDE). En presencia de renina, ANF produjo vasodilatación y aumento del flujo microcirculatorio (vuelta a control), pero sin aparición de SDE, ni aumento en CL-FITC-Dx. BK produjo SDE, aumento del diámetro arteriolar (5-10%) y del flujo sanguíneo (25-35%) indistintamente con o sin Inf-Ren, pero los efectos sobre CL-FITC-Dx fueron aditivos (175% BK y 480% BK más Inf-Ren).

Estos resultados sugieren que el alza de la presión arterial aumenta el transporte de macromoléculas por mecanismos convectivos y que ANF participa sólo como vasodilatador local.

Proyectos USPHS-NIH (HL 25302) y FONDECYT 1127/87.

EVIDENCIAS PARA LA COOPERATIVIDAD BIOSINTETICA ISOPRENICA DE FRACCIONES DE CROMOPLASTOS DE *Citrus sinensis*. (Evidences for isoprenic biosynthetic cooperativity of chromoplasts sub-fractions in *Citrus sinensis*). Bravo, C. Dep. Bioq. Biol. MOL., Fac. Cs. Quím. Farm. Univ. de Chile. (Patrocinio: L.M. Pérez).

Estudios preliminares realizados sobre la distribución subcelular de enzimas de la vía isoprenica, sugieren la presencia de dos formas de preniltransferasa  $C_{10}$ : una en la fracción soluble y otra en cromoplastos.

Se estudió la distribución de las enzimas IPP isomerasa,  $C_8$ ,  $C_{10}$  y  $C_{15}$  preniltransferasas en cromoplastos intactos, membranas de cromoplastos y estroma soluble, con el objeto de analizar la cooperatividad biosintética entre las dos fracciones.

Los resultados señalan que cromoplastos intactos sintetizan farnesilpifosfato ( $C_{15}$ ) y compuestos carotenoides, a partir de  $^{14}C$ -IPP. La actividad de IPP isomerasa, como las actividades responsables de la formación de isoprenoides de hasta 15 át. de C, estarían asociadas al estroma soluble; mientras que las enzimas asociadas a membranas de cromoplastos estarían involucradas en las etapas posteriores de la formación de carotenoides.

Experimentos de electroforesis en SDS y de electroenfoque, mostraron perfiles proteicos para cromoplastos intactos y sus subfracciones que confirman lo afirmado anteriormente.

Trabajo dirigido por Luz M. Pérez y financiado por proyectos 9/ 87 de FONDECYT y AC/ 3089 International Foundation for Science.

DIETA Y REQUERIMIENTOS ENERGETICOS DE *Abdoma andinus*: EFECTOS SOBRE LA MORFOLOGIA DIGESTIVA. (Diet and energetics requirements of *Abdoma andinus*: effects on digestive morphology). Bozinovic, F. y Veloso, C. Depto. Cs. Ecológicas, Fac. Ciencias, Universidad de Chile.

Con un aumento de las necesidades energéticas o disminución de la calidad del alimento en el ambiente, los microanfibios pueden aumentar la ingesta de alimento, digestibilidad y volumen del tracto digestivo. Así, planteamos una relación positiva entre las necesidades energéticas, calidad del alimento y morfología digestiva. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de la calidad del alimento y necesidades energéticas sobre la morfología del tracto digestivo de *A. andinus*.

Se utilizaron 32 individuos machos adultos con un peso corporal promedio de 27.03 g, capturados en Farellones, los que fueron mantenidos en 4 grupos de 8 animales: 1) dieta diluida (alto 2 fibra) y temperatura ( $T^{\circ}$ ) alta (25  $^{\circ}C$ ) (DC); 2) dieta diluida y  $T^{\circ}$  baja (5  $^{\circ}C$ ) (DF); 3) dieta concentrada (bajo 2 fibra) y  $T^{\circ}$  alta (CC) y 4) dieta concentrada y  $T^{\circ}$  baja (CF). Después de 30 días se sacrificaron los animales y se examinó la morfología digestiva (largo y peso de los órganos).

En general, los resultados muestran cambios significativos en el peso y largo total del tracto digestivo, intestino delgado, intestino grueso, estómago y contenido del tracto ( $p < 0.05$ ). Por ejemplo el peso del tracto digestivo presenta una variación máxima de 32.5% entre DF y CC por efecto de la disponibilidad de energía (calidad de dieta), necesidades energéticas ( $T^{\circ}$ ) e interacción de ambos efectos.

En conclusión, la interacción entre una baja calidad de dieta y altos requerimientos energéticos por efecto de bajas  $T^{\circ}$ , provoca en estos roedores cambios digestivos y aumento en la ingesta. Así, animales como *A. andinus* que están sometidos a fuertes cambios ambientales-estacionales con períodos de estrés energético, pueden mantener su homeostasis metabólica desarrollando grandes cámaras digestivas y aumentando la ingestión de alimento pobre en energía, lo que conllevaría cambios en la eficiencia de digestión.

Este trabajo fue parcialmente financiado por los proyectos DIB N-2594 de la Universidad de Chile y FONDECYT 5002, 0005.

EFFECTO DE N-2-ACETILAMINOFLUORENO SOBRE ACTIVIDAD DNA-CITOSINA-5-METILTRANSFERASA EN RATAS SPRAGUE DAWLEY. (Effect of N-2-acetylaminofluorene on DNA cytosine-5-methyltransferase activity from Sprague Dawley rats). Bravo, L., Salas, C. Departamento de Química, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile.

N-2-acetilaminofluoreno (AAF) es un potente cancerígeno hepático, que después de su activación metabólica se une a DNA, RNA y proteínas hepáticas cuando es administrado in vivo. Se ha observado en hepatocarcinomas inducidos por AAF una variación en los niveles de metilación del DNA. La metilación del DNA ocurre como una modificación post-replicacional. De esta manera, en mamíferos alrededor de un 3% de los residuos de citosina se encuentran en la forma de 5-metil citosina.

Hemos estudiado el efecto de AAF sobre la actividad DNA metiltransferasa en ratas Sprague Dawley. Una suspensión de AAF en aceite vegetal fue inyectada intraperitonealmente en ratas (25 mg./Kg). Los animales fueron sacrificados a distintos intervalos (1-34 días) y la fracción nuclear que contiene DNA metiltransferasa fue aislada. El extracto que contiene la actividad enzimática se usó para medir la metilación de DNA heterólogo en presencia de S-adenosil-L-[metil<sup>3H</sup>]metionina como metil donante. La identificación del producto de la reacción se hizo mediante cromatografía líquida de alta eficiencia. Se comparan los efectos de AAF en la actividad metiltransferasa de diversos órganos y en ambos sexos. Financiado por DICYT 16-10-83-325B y 10-85-74AL.-

ESTRUCTURA BIOQUÍMICA DE LA VAINA FIBROSA DE ESPERMIO DE RATA (Structural Biochemistry of the Fibrous Sheath of Rat Sperm) BRITO, M., Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia (PATROCINIO: L.O. Burzio).

Uno de los componentes fascinantes de la cola de espermio de mamíferos es la vaina fibrosa (VF) cuya estructura recuerda un esqueleto de serpiente. Sin embargo aún se ignora el rol de la VF en motilidad espermática. Para ganar información hemos perfeccionado un método para aislar VF de espermio de rata u otras especies. Después de un tratamiento breve con 1% Tritón X-100 y 2 mM DTT, los espermios se incubaron por 2 o más horas en 6 M urea, 50 mM TRIS-HCl (pH 8.0), 2 mM DTT, 1 mM PMSF y 1 mM EGTA. Las VF se aislaron mediante un gradiente discontinua de sacarosa (0.9 y 1.8 M) en presencia de Tritón. ME no sólo revela la pureza de la preparación sino que la estructura típica de la VF. Esta estructura está compuesta de un conjunto de proteínas dentro de las cuales destacan por su abundancia los polipéptidos de 80 Kd; 24 Kd y 12 Kd. Estos tres polipéptidos se han purificado y su composición aminoacídica revela una naturaleza queratinoide. Los polipéptidos de 80 Kd y 24 Kd son distintos a los componentes de similar tamaño de las fibras densas externas (87 Kd y 26 Kd). Sin embargo el componente de 12 Kd pareciera ser común a ambas estructuras fibrilares (tamaño, composición y NH<sub>2</sub>-terminal). El polipéptido de 80 Kd contiene 3 a 4 moles de fosfoserina por mol de proteína. Existe coincidencia entre el alto grado de fosforilación de este polipéptido y la localización de la subunidad catalítica de la quinasa proteica: ambos están en la pieza principal de la cola del espermio. Estos resultados se discutirán en relación a motilidad y fosforilación de proteínas. (Financiado por proyecto RS-85-10, DID U.A.CH. y Grant I/61 457 Stiftung Volkswagenwerk, Alemania).

COEXISTENCIA DE DIFERENTES ESPECIES DE DROSOPHILA EN FRUTAS FERMENTADAS NATURALMENTE. (Coexistence of different species of *Drosophila* in naturally fermented fruits). Brncić, D. Depto Biol. Cel. y Gen. Fac. Med. U. de Chile.

Con el objeto de investigar las condiciones de coexistencia de especies generalistas del género *Drosophila* que utilizan un mismo recurso (frutas fermentadas naturalmente), en una zona sub-urbana de Stgo., se recogieron del suelo frutas en estado avanzado de putrefacción de las siguientes especies: *Eriobotrya japonica*, *Morus alba*, *Prunus avium*, *P. domestica* y *Vitis vinicola*. 100 ejemplares de cada una de estas frutas fueron colocadas individualmente en frascos con una cantidad pequeña de medio de cultivo para *Drosophila* y todas las moscas emergidas se contaron y se clasificaron.

Un análisis cuantitativo de las especies emergidas más frecuentes (*D. immigrans*, *D. melanogaster*, *D. simulans* y *D. subobscura*) indicó: (1) Que las especies tienen una fuerte tendencia gregaria, independientemente del fruto utilizado, de la densidad o de la presencia de una segunda especie. (2) El número observado de frutas colonizadas por una sola especie, por dos especies abundantes o no colonizadas, se ajusta a los valores esperados de acuerdo con la hipótesis de asociación al azar, indicando que las especies no se interfieren en la elección del sitio de oviposición. (3) Sin embargo, durante el desarrollo larval, se evidencian fuertes interacciones competitivas al comparar el número observado y esperado de moscas nacidas de frutas colonizadas por una o por dos especies. (Financiado por Proyecto B 2308-8725, U. de Chile).

COMPARTIMENTALIZACIÓN GONADAL EN *Calyptrea* (*Trochita*) *trochiformis* (MOLLUSCA, MESOGASTROPODA). (Gonadal compartmentalization in *Calyptrea* (*Trochita*) *trochiformis* (Mollusca, Mesogastropoda)). Brown, D. Depto. Biol. Cel. y Genética, Fac. Med., U. de Chile.

*C. (T.) trochiformis* tiene una sexualidad hermafrodita protándrica. Se propone que ésta, en su componente gonadal, se expresa por la organización en compartimentos, creando microambientes para el desarrollo de la gametogénesis consecutiva en un individuo. En este trabajo se presentan antecedentes de la existencia de compartimentos gonadales.

Animales en las diferentes fases sexuales se procesaron para M.O. y M.E.T. Para evidenciar barreras intercelulares al flujo de sustancias se usó lantano como trazador electrodens.

Aún cuando hay variaciones correlacionadas con la fase sexual, en este molusco la gónada está organizada en tres compartimentos generales: A; intersticial, donde un tejido conectivo de reserva con células adipovesiculosas PAS+/Alcian Blue+, fibroblastos, amebocitos, etc.; contiene arteria, vasos y lagunas sanguíneas. B; peritubular, integrado por fibroblastos, células mioideas y una membrana basal PAS+/Alcian Blue+, destacándose fibras de colágeno. C; tubular, gametogénico, con las células somáticas y germinales correspondientes. La existencia de uniones septadas que aparentemente impiden flujo de lantano entre las células de Sertoli en la fase masculina, crea una subcompartimentalización intratubular.

Este patrón de organización gonadal tiene similitudes con el observado en gónada masculina de mamíferos. En esta especie se propone que la subcompartimentalización tubular separaría a la línea germinal masculina en un compartimento adluminal; manteniéndose la línea germinal femenina (ovogonias) quiescente en un compartimento basal. Esta compartimentalización permitiría la expresión de la sexualidad hermafrodita protándrica en su componente gonadal.

EFFECTO LOCAL Y SISTEMICO DE DL-PROPRANOLOL SOBRE LA IMPLANTACION. (Local and systemical effect of DL-propranolol on implantation). Bruzzone M.E., León F.M., Becerra M.A., Román E. y Chávez M. Depto. Fisiol. y Biof., Fac. Med. Norte, Univ. de Chile.

Se estudió el efecto local y el efecto sistémico (agudo y crónico) del DL-propranolol sobre la implantación en la rata.

Se utilizaron 21 grupos de ratas hembras de la cepa Sprague Dawley (peso: 200-250g): 1) 10 (n=5) para el tratamiento local, 5 con DL-propranolol y 5 con isoproterenol en concentraciones crecientes de 4 a 150mM; 2) 8 (n=5) para el tratamiento sistémico agudo, 4 con DL-propranolol y 4 con isoproterenol (4 a 75mM) y 3) 3 (n=15,7,7) para el tratamiento sistémico crónico con DL-propranolol, en concentraciones de 20, 10 y 1 mg/d. Las administraciones local y sistémica aguda se realizaron el día 1 postcoital: la 1ª mediante instilación endouterina en el cuerno derecho y la 2ª por inyección en la aorta abdominal. Las ratas controles fueron instiladas con suero fisiológico en el cuerno izquierdo o inyectadas en la aorta. Al 9º día se cuantificó el Nº de implantaciones. La administración sistémica crónica se realizó por vía oral durante 10ds utilizando como control un grupo tratado con suero fisiológico. Después de los 10ds de tratamiento se colocaron las ratas en proestro con machos. A los 9 ds se determinó el Nº de implantaciones en las hembras que quedaron preñadas.

Los resultados muestran que el DL-propranolol es capaz de bloquear la implantación sólo cuando es instilado localmente. En cambio, el isoproterenol no altera este proceso.

ESTUDIOS EXPERIMENTALES SOBRE LA COEXISTENCIA DE ESPECIES DE *DROSOPHILA*. (Experimental studies on coexistence of species of *Drosophila*). Budnik, M. Depto. Biol. Cel. y Gen. Fac. Med. U. de Chile.

En el género *Drosophila* se ha observado que los preadultos que crecen en un medio en el que previamente se han desarrollado larvas de su propia o de una especie diferente sin que exista escasez de espacio y de recursos, pueden experimentar cambios en su viabilidad. Una de las explicaciones sería la acumulación de productos de desecho metabólico y, la reacción sería especie-específica (Weisbrot 1966, Budnik, 1979).

Estudios experimentales de *D. subobscura* especie de reciente colonización en Chile, señalan que sus preadultos al compartir recursos limitados con *D. pavana* y *D. immigrans*, especies que coexisten en el mismo hábitat, sufren deterioro en su desarrollo huevo-adulto. Por tal razón, se quiso conocer el efecto de los productos metabólicos de desecho larval de las especies mencionadas anteriormente sobre *D. subobscura* sin que exista escasez de recursos. Los resultados obtenidos señalan que el desarrollo huevo-adulto de *D. subobscura* se interfiere fuertemente. Estos hechos nos permitirían entender que cuando preadultos de especies de *Drosophila* comparten una misma fuente alimenticia, su coexistencia depende de tanto de sus habilidades para competir por este recurso, y también de otros factores, como los puestos en evidencia a través de los experimentos realizados (Financiado por Proyecto B 2308-8725 U. de Chile y Proyecto CONICYT - FONDECYT N°1030).

PREDICCIÓN DE ESTRUCTURA SECUNDARIA DE PROTEÍNAS. PROBLEMAS Y PROYECCIONES. (Protein secondary structure prediction. Problems and future development). M. Bunster, V. Vargas y O. Carrillo. Lab. Biofísica Molecular, Depto. de Biología Molecular, Universidad de Concepción.

Numerosos métodos de predicción de estructura secundaria de proteínas, a partir de secuencias han sido desarrollados. Cada uno de ellos ha demostrado tener un cierto porcentaje de credibilidad, al aplicarse a estructuras conocidas.

Aún en métodos, como el de Chou y Fasman y el de perfiles de hidrofobicidad, que han demostrado tener hasta un 80% de credibilidad, existe la dificultad de distinguir, en la predicción, entre estructuras helicoidales y extendidas internas, dado que los residuos de carácter hidrofóbico, presentan similar preferencia por ambas estructuras.

En este trabajo se discuten diferentes métodos diseñados para distinguir entre estructuras internas, utilizando como modelo de hélice interna las encontradas en proteínas de membrana. Estos métodos son aplicados a estructuras internas de proteínas globulares conocidas.

Se discute también el aporte que los cálculos de energía conformacional pueden hacer a los métodos de predicción de estructura secundaria de proteínas, ya que necesariamente toda estructura tridimensional de una proteína debe ser una estructura de energía mínima.

Proyectos 20.31.15 y 20.31.12 DIC, Universidad de Concepción.

HETEROGENEIDAD DE CANALES DE CALCIO EN VESÍCULAS DE RETÍCULO SARCOPLASMÁTICO DE RANA. (Heterogeneity of calcium channels in frog sarcoplasmic reticulum vesicles). Bull, R., Marengo, J.J. e Irribarra, V. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las vesículas de retículo sarcoplasmático (RS) de rana tienen al menos dos tipos de canales de calcio (V. Irribarra et al. y B. Suárez, XXX Reunión Anual Sociedad de Biología, 1987). Uno de ellos, es activable por inositol (1,4,5)-trifosfato (InsP3), calcio y ATP, y bloqueable por magnesio y lantano. Con el propósito de estudiar la selectividad y mecanismos de activación de estos canales, fusionamos fracciones purificadas de vesículas de RS pesado de *Caudiuverba caudiuverba* con bicapas planas. Las vesículas se agregaron en el compartimiento *cis*, correspondiendo el lado *trans* al intrarreticular.

Se estudió el canal de mayor conductancia con diferentes concentraciones de divalente en *trans*, observándose que la amplitud de la corriente (I) a 0 mV creció para calcio desde 0.5 pA en 1 mM a 3.3 pA en 50 mM. Para bario, I aumentó desde 0.8 pA en 5 mM a 2.5 pA en 50 mM.

El canal de menor conductancia (60 pS en 50 mM Ca *trans*) se activa por cafeína 10 mM *cis*, sin que se observe modificación de su conductancia. Este canal no es activado por calcio, InsP3, ni ATP.

Estos resultados sugieren que los efectos de agentes que modulan liberación de calcio desde el RS pueden ser la consecuencia de su acción sobre canales diferentes.

Financiado por NIH Grant GM 35981, FONDECYT proyecto 598, MDA, y DIB 2123.

ESTUDIO DE LA TASA DE CATECOLAMINAS EN LAS SUPRARENNALES DE OCTODON DEGUS (Catecholamine levels in adrenal glands of octodon degus). Bustamante, D. y Paeile, C. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Interesados en la resistencia natural del *O. degus* a morfina, se realizó un estudio de distribución de <sup>3</sup>H-Naloxona en distintos tejidos centrales y periféricos luego de su administración "in vivo", encontrándose que las suprarrenales del *O. degus* junto con ser significativamente de mayor tamaño que en la rata Wistar (131 ± 9 n=8 y 53 ± 3 n=7 mg/par) fijaron el doble de <sup>3</sup>H-Naloxona que los otros tejidos. Luego se estudió la respuesta del *O. degus* a la administración i.v. de noradrenalina (NA), en dosis crecientes a las cuales demostró una resistencia significativa, y algunos parámetros neuroquímicos de las células cromafines de la médula suprarrenal, intentando explicar la resistencia del *O. degus* a los efectos presores de NA.

Determinamos catecolaminas totales en un homogenizado de glándula, captación de <sup>3</sup>H-NA y su liberación fraccional por estímulo con K<sup>+</sup> = 65 mM, y biosíntesis de catecolaminas usando un precursor radioactivo en glándulas incubadas "in vitro".

Encontramos que el *O. degus* dispone de una cantidad de catecolaminas, en la médula suprarrenal, significativamente mayor que la rata (570 ± 69 n=8 y 331 ± 16 n=7 µg/kg peso). La captación de <sup>3</sup>H-NA, siendo muy escasa en este tejido (Wakade et al. Neurosc. Lett. 50:139(1984)), es mayor en las suprarrenales de *O. degus* que en la rata, lo mismo que su liberación fraccional que es Ca<sup>2+</sup> dependiente.

Los resultados sugieren que la médula suprarrenal del *O. degus* dispone de un sistema adrenérgico muy activo que puede explicar en parte el origen de la resistencia a los efectos presores de catecolaminas y su conducta hiperactiva. Por su parte la resistencia a los efectos de morfina podrían deberse a una desensibilización producto de la cosecreción de opioides y catecolaminas desde las células cromafines. (Proy. B.1677.8644 DIB).

LA FOSFORILACION DE IgG HUMANA, MEDIADA POR TIROSINA PROTEIN KINASA, ALTERA LA FUNCIONALIDAD DEL ANTICUERPO. (Human IgG phosphorylation, mediated by tyrosine protein kinase, alters the antibody's function). Bustamante, M., Smith, C. y Klemm, A. Departamentos de Biología Molecular y de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción. (Patrocinio: L. Sánchez).

El rol de tirosina protein quinasa (TPK) en procesos de proliferación celular normal y patológica ha sido demostrado. Uno de los substratos de esta enzima es la inmunoglobulina G de conejos portadores de tumor. Dentro de los estudios de caracterización de TPK humana aislada de linfocitos T activados por fitohemaglutinina, hemos estudiado el efecto de la fosforilación, mediada por esta enzima, sobre IgG humana anti-D comercial. Para este estudio, fosforilamos *in vitro* IgG anti-D, utilizando una preparación de TPK purificada 25 veces por cromatografía de afinidad en Affy-Blue (BioRad) y (Gamma <sup>32</sup>P) ATP como donador de fosfato. La IgG anti-D fue previamente titulada por hemaglutinación indirecta, utilizando glóbulos rojos grupo O Rh+ y antiglobulina de conejo. Después de la fosforilación, la IgG y los controles respectivos fueron sometidos a electroforesis en geles de poli-acrilamida-SDS y a una reticulación utilizando el mismo sistema descrito arriba. Se demostró que la IgG humana anti-D comercial es fosforilada por TPK, presentando un Km de 0.31 mg/ml. Junto con esto disminuye el poder aglutinante del anticuerpo fosforilado en a lo menos un orden de magnitud frente al control respectivo. Estos resultados sugieren que en individuos que presentan una actividad elevada de TPK, tal como ocurre en fenómenos proliferativos, una fracción de la IgG se encontraría fosforilada y, por lo tanto, funcionalmente inactivada. Financiado por Proyecto FONDECYT 86/87, Proyecto DIUC 20.36.01, y los Departamentos de Biología Molecular y Microbiología de la Universidad de Concepción.

PREPARACION DE ANTIGENOS MYCOBACTERIUM. (Preparation of mycobacterial antigens). Bustos, A. Dpto. Inmunología, Univ. de Birmingham, Inglaterra. Dpto. Bioq. Aplicada, Fac. de Farmacia, Univ. de Concepción. (Patrocinio: V. Silva).

Debido a que aún no se conocen totalmente los antígenos (Ags) especie-específicos del *Mycobacterium*, el objetivo de este trabajo fue ampliar el conocimiento sobre su composición antigénica. Se utilizó *Mycobacterium bovis* BCG, *Mycobacterium tuberculosis* y el derivado proteico purificado PPD como fuente de Ags. Se obtuvieron preparados solubles del *M. bovis* y *M. tuberculosis* utilizando diferentes condiciones de sonicación y centrifugación. Los preparados antigénicos obtenidos se inyectaron en ratones bajo distintos protocolos de inmunización. Tanto la respuesta de anticuerpos (Acs) como las condiciones óptimas de sonicación y centrifugación se evaluaron por las técnicas de enzaimunoensayo (ELISA) y radioinmunoensayo (RIA).

Los resultados de ELISA y RIA demostraron que con Acs policlonales, el preparado no sonicado de BCG y el sonificado por un largo período de tiempo no proporcionan valores positivos; el BCG sonicado 10 veces durante 1 min. (10x) es mejor que el sonicado 5 veces (5x) o 2 veces (2x). En cambio, es mejor utilizar una mezcla de sonicados (2x+5x+10x) para trabajar con Acs monoclonales. El sonificado obtenido de *M. tuberculosis* y el PPD son excelentes preparados para la determinación de Acs poli y monoclonales.

Se discuten los resultados en base a la selección y tratamiento adecuado del antígeno a utilizar y a las condiciones óptimas de los métodos de ELISA y RIA en la determinación de Acs policlonales y en la selección de Acs monoclonales positivos.

EXPRESION DE FOSFATASA ALCALINA DURANTE EL DESARROLLO INICIAL DE MAMIFEROS: ESTUDIO DE SU LOCALIZACION Y FUNCION MEDIANTE ANTICUERPOS MONOCLONALES. (Alkaline phosphatase expression during the early development of mammals: A study of its localization and function with rat monoclonal antibodies). Cachigas, V., Soza, A., Becker, M. L. Lab. Inmunología, Fac. Ciencias Biol.; Lab. Reumatología, Hosp. Clínico, P.U. Católica y Lab. Biol. del Desarrollo, Fac. de Ciencias, U. de Chile.

Fosfatasa alcalina (FAL) es una fosfomonoesterasa con una localización ubicua en tejidos y órganos. Esta enzima ha sido un importante marcador para estudiar la diferenciación preimplantacional del embrión de mamíferos, porque su actividad se detecta desde el estado de 4 células en adelante y su localización revela una regionalización de la membrana plasmática, que permite distinguir la parte baso lateral de la parte apical de los blastómeros.

El propósito de este trabajo es estudiar la expresión, localización y función de FAL en el desarrollo temprano del ratón, utilizando anticuerpos monoclonales (AMC) dirigidos contra células de teratocarcinoma embrionario de la línea F9 (TC-F9), porque estas células y los embriones preimplantacionales comparten antígenos que se expresan en la superficie celular.

De un panel de 59 AMCs de rata, dirigidos contra antígenos de superficie de células de ratón y células TC-F9 se seleccionaron 16 AMCs, por un ensayo de ELISA usando un extracto de células TC-F9 tratadas con Tritón, que presenta actividad de FAL.

La localización de estos AMCs, analizada por inmunofluorescencia indirecta demuestra que: 1. Existen cuatro AMCs que se unen a formas de FAL que se expresan desde la ovogénesis, uno de ellos se reconoce en la Masa Celular Interna y en el Trofoblasto, y el resto sólo en el Trofoblasto. 2. Existen seis AMCs que reconocen una forma de FAL que se expresa durante el clivaje y que luego se localiza sólo en la Masa Celular Interna; esta forma de FAL podría servir como un marcador de linaje. 3. Además, uno de los AMCs que se une a FAL, que en el embrión se localiza sólo en Trofoblasto, mezclado con otro AMC que no se une a FAL, inhiben la confluencia de células de TC-F9 cultivadas *in vitro*.

Financiado por U. de Chile y Fondecyt.

ACCION INTRACEREBROVENTRICULAR DE BENZODIAZEPINAS EN RATAS ESTRESADAS. (Intracerebroventricular action of benzodiazepines in stressed rats). Cairo, Y., Tauer, M. y Sánchez, R. Departamento de Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera.

Frente a estímulos físicos de estrés la rata presenta una respuesta donde participa el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal originándose efectos simpático-adrenérgicos, endocrinos e inmunitarios. Utilizando el modelo de estrés por inmovilización, el objetivo de este trabajo fue observar el efecto de Diazepam (DZ) administrado por vía intracerebroventricular (i.c.v.) sobre la respuesta endocrina al estrés.

Se midieron los niveles plasmáticos de corticosterona, glucosa e insulina en ratas sometidas a estrés por inmovilización a las que se administró DZ vía i.c.v. (1 µg/100g de peso) y en animales a los que sólo se administró el vehículo.

En los animales controles sometidos a estrés la corticosterona subió a  $22,1 \pm 1,7$  µg/dl a los 30 minutos, no observándose diferencia con los niveles alcanzados por las ratas tratadas con DZ 10 minutos antes de iniciada la inmovilización ( $20,4 \pm 1,7$  µg/ml). Los máximos niveles de glucemia también se alcanzaron a los 30 minutos de inmovilización en animales controles ( $124,8 \pm 26,8$  mg/dl), observándose un alza menor, pero no significativamente diferente, en los animales inmovilizados 30 minutos tratados con diazepam ( $p < 0,1$ ). La insulinemia en animales tratados con DZ experimentó un alza a los 30 y 60 minutos ( $7,41 \pm 3,20$  y  $7,47 \pm 1,95$  µU.I./ml respectivamente), en relación al nivel basal ( $5,50 \pm 1,56$  µU.I./ml); mientras que en ausencia de DZ sólo se observó un alza a los 60 minutos de inmovilización ( $7,83 \pm 1,88$  µU.I./ml).

Estos resultados sugieren que el DZ en las dosis empleadas por vía i.c.v. no tendría efecto sobre la respuesta endocrina, a diferencia de sus efectos sobre los movimientos del animal durante el estrés de inmovilización.

Financiado por: Proyecto 0815/86 de FONDECYT.

**PROTEOGLICANES DE MATRIZ EXTRACELULAR EN EL DESARROLLO DE *Drosophila*** (Extracellular matrix proteoglycans in *Drosophila* development). Cam-biazo, V. e Inestrosa, N.C., Unidad de Neuro-biología Molecular, Depto. Biología Celular. P. Universidad Católica de Chile.

Estudios previos han indicado que los proteoglicanos (PGs) de la matriz extracelular (MEC) son moduladores importantes de los procesos morfogénéticos. En este trabajo se han caracterizado los PGs de MEC durante el desarrollo larval de *Drosophila melanogaster* y se han estudiado las modificaciones producidas por la administración de  $\beta$ -xilósidos, moléculas que interfieren con el ensamblaje de los PGs.

Durante el desarrollo larval la mayor incorporación de  $^{35}\text{SO}_4$  en PGs de MEC ocurre en el segundo estado. Aproximadamente el 90% de las moléculas sulfatadas, presentes tanto en el segundo como en el tercer estado larval, son sensibles al  $\text{HNO}_2$ , indicando que se trata de heparan sulfato. Los PGs fueron extraídos con guanidina-HCl 4,0 M y fraccionados en columnas de DEAE-Sephacel. Una fracción de los PGs eluye a 0,45 M NaCl y es muy sensible a la degradación con  $\text{HNO}_2$ . Al fraccionar el material de la DEAE-Sephacel, en columnas de Sepharosa CL-6B, se obtienen 2 especies de PGs con diferentes pesos moleculares.

La administración de  $\beta$ -xilósidos durante el desarrollo larval, causa alteraciones en ciempatrones conductuales bien establecidos. Además, los PGs extraídos de larvas tratadas presentan un menor peso molecular que los controles. Nuestro estudio permite sugerir que los PGs de la MEC juegan un papel importante durante el desarrollo larval de *Drosophila*.

Financiado por DIUC 77/86.

**FORMAS MOLECULARES DE ACETILCOLINESTERASA EN MUSCULOS ESQUELÉTICOS Y CARDIACO** (Molecular forms of AChE in skeletal and cardiac muscles). Campos, E., Soza, M.A., Morán, S. y González, R. Unidad de Neurobiología Molecular, Deptos. Biología Celular, Neurología y Enf. Cardiovasculares, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: N. Riveros).

La Acetilcolinesterasa (AChE), una enzima del sistema colinérgico posee formas tanto globulares como asimétricas.

Hemos iniciado el estudio de esta enzima tanto en músculos esqueléticos de rata, sometidos a sobrecarga de calcio y en músculo cardíaco humano de pacientes normales y con fibrilación auricular.

Las formas de AChE se analizaron por solubilización diferencial y gradientes de sacarosa. La actividad enzimática se estimó por el método colorimétrico de Ellman. Nuestros resultados indican:

(a) En el daño muscular inducido por calcio, el % de salida de la AChE está aumentado, como así también se ha detectado una disminución en las formas asimétricas.

(b) En la aurícula humana se describen por primera vez las formas enzimáticas de la AChE. Los tipos globulares que corresponden al 80% del total, están formadas por enzima soluble y unida a membrana. El 20% restante corresponde a formas asimétricas.

En estudios posteriores se evaluará el contenido de AChE en biopsias de pacientes con distintas patologías.

Financiado por DIUC y FONDECYT a M. Soza, R. González y N.C. Inestrosa.

**ESTUDIO DEL BINOMIO: ESTRUCTURA Y FUNCION EN  $\beta$ -LACTAMASA DE *Shigella flexneri* UCSF-129** (Structure and function relationship of  $\beta$ -lactamase from *Shigella flexneri* UCSF-129). Campos, M., Alarcón, M., González, H. Depto. Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Concepción.

Las  $\beta$ -lactamasas constituyen el mecanismo de resistencia más relevante para la eficacia de antibióticos de primera línea; como las penicilinas y cefalosporinas, en la cura de enfermedades infecciosas. El problema se complica, pues existe una gran variedad de estas enzimas en cuanto a propiedades fisicoquímicas se refiere. Nosotros trabajamos con la  $\beta$ -lactamasa de *Shigella*, cepa patógena a nivel gastro-intestinal. Esta enzima se ha purificado a homogeneidad por cromatografía de intercambio iónico y exclusión molecular, actualmente se realiza por cromatografía de afinidad en ácido fenilborónico-agarosa (98% de rendimiento). Mediante modificaciones químicas específicas se ha concluido que Ser está a nivel del Centro Activo, Tyr en su vecindad. La meta final es diseñar y sintetizar el inhibidor específico que permita la recuperación de antibióticos; como las penicilinas, que no han sido superados. En este trabajo se prueban una serie de inhibidores, ya sean de origen natural o sintético, con estructura  $\beta$ -lactámica; de tal modo de lograr por aproximaciones sucesivas, el inhibidor ideal para esta enzima. Para ello, se incubó la enzima purificada en presencia del inhibidor a 37°C en tampón fosfato 20mM, pH7.2, durante 15 min. Luego se determinó la actividad remanente en duplicado, utilizando el método yodométrico. Se estableció que el I50 (concentración del inhibidor, en  $\mu\text{g/ml}$ , que reduce la actividad de la  $\beta$ -lactamasa en un 50%) es de: 0.091, 0.30, 0.40, 0.87 y 255 para el ácido 6- $\beta$ -yodopenicilánico, ácido clavulánico, ácido olivánico MM 13902, ácido 6- $\beta$ -bromopenicilánico y la sulfona del ácido penicilánico respectivamente. Financiado por el Proyecto 20.13.20. y 20.13.54 de la Universidad de Concepción.

**STRESS OXIDATIVO EN EL GLOBULO ROJO DEL RECIEEN NACIDO.** (Oxidative stress in red blood cells of human newborn). Cañas P.E., Celedón C., Llaguno S. y Olivares M. Unidad de Bioquímica Farmacológicas y Unidad de Hematología. INTA. Universidad de Chile.

El presente trabajo se realizó con el objeto de evaluar algunos factores que pueden contribuir al deterioro de los glóbulos rojos de niños prematuros comparados con los glóbulos rojos de niños de término y de sangre adulta. Para realizarlo se tomó sangre de cordón de alrededor de 60 niños recién nacidos de distinta edad gestacional y distinto peso al nacer.

Se midió la actividad de las enzimas que protegen a los eritrocitos del stress oxidativo en los distintos grupos de niños clasificados como pequeños o adecuados para la edad gestacional. No se encontraron diferencias significativas en la actividad de catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa. Simultáneamente se midieron los niveles de lipoperoxidación, expresado como malondialdehído (MDA). Se encontraron diferencias significativas de este metabolito, en los niños de edad gestacional de 34 a 37 semanas comparadas con los niños de término (mayores de 38 semanas).

Hemos informado anteriormente que uno de los factores que pueden contribuir al deterioro del glóbulo rojo es la distinta capacidad lipoperoxidativa de la hemoglobina fetal (HbF) con respecto a la hemoglobina adulta (HbA). Si se considera que la relación (HbF/HbA) disminuye con la edad gestacional en la última etapa del embarazo, y se correlaciona con niveles de MDA mayores, se puede postular que existiría una relación entre ambas variables. De este modo, los eritrocitos de los niños prematuros estarían sometidos a un stress oxidativo superior al observado en los niños de término. Esta observación podría ser un componente importante en la etiología de la anemia del prematuro. (Proyecto DIB: B 2391-8723).

**NIVELES DE AMPc ESTAN ELEVADOS EN MEDULA RENAL DE RATAS SOMETIDAS A SOBRECARGA CRONICA DE PRESION.** (cAMP levels are elevated in renal medulla of rats under chronic pressure overload). Carrasco, M.T. y Pérez, F.E. Depto. de Fisiol. y Biof. Fac. Med. Norte, Univ. de Chile.

En experimentos previos en nuestro laboratorio, utilizando un modelo de hipertensión crónica en ratas, encontramos disminución del AMPc en tejido cardíaco y aórtico. Por otra parte existen antecedentes de que el AMPc de origen renal se modificaría en la hipertensión. Nuestro objetivo fué determinar los niveles de este nucleótido en médula de riñón de ratas hipertensas.

Se utilizaron 2 grupos (n=12) de ratas hembras de la cepa Sprague-Dawley (150-200 g). En un grupo se realizó constricción de la aorta abdominal, por debajo del origen de las arterias renales. Al grupo control se le practicó una operación ficticia. La presión sistólica al inicio del experimento se registró por pleismografía. Al cabo de un mes, se midió la presión directamente en la carótida unida a un polígrafo. Las ratas fueron sacrificadas, se extrajo una muestra de médula renal y se midió el AMPc por el ensayo de unión competitiva a proteínas para AMPc.

Los resultados confirmaron al grupo control como normotenso con 110 mmHg, y al grupo con ligadura como hipertenso con valores de 170 mmHg. Los niveles de AMPc fueron: 1.2 pmol/mg prot. en el grupo control y 2.1 pmol/mg prot. en las ratas hipertensas. Estos resultados, sugieren que el alza del AMPc, podría atribuirse a un aumento en el metabolismo de este nucleótido, cuyo rol no está completamente claro.

**POLIAMINAS ALTERAN LA ACTIVIDAD DE FOSFATIDIL-INSITOL QUINASA.** (Polyamines affect the activity of phosphatidylinositol kinase.) Carrasco, D., Jacob, G. y Allende, J. E., Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Fosfatidilinositol quinasa presente en membranas de oocitos de *Xenopus laevis* cataliza la formación de fosfatidilinositol 4-fosfato (PIP) usando fosfatidilinositol (PI) y ATP como sustratos. Homopolímeros de polilisina y poliornitina de Mr >20.000 estimulan 3 veces la formación de PIP cuando presente a concentraciones de 50-60 µM. En condiciones similares poliarginina inhibe la reacción. Polímeros más chicos de 25 lisinas o un oligopeptido de 14 aminoácidos (8 lisinas) correspondiente al terminal carboxílico de la proteína C-Ki-ras 2, estimulan en una manera similar a concentraciones de 300-500 µM. Polilisina y poliornitina no cambian el Km aparente de la enzima por ATP o PI pero aumentan la velocidad máxima de la reacción. Polilisina también estimula ligeramente la desfosforilación de PIP en estas membranas. Las poliaminas spermina y spermidina también estimulan a concentraciones milimolar. Con el antibiótico neomicina se observa un efecto bifásico, de estimulación a concentraciones menor que 0.5 mM y inhibición a concentraciones mayores. En las condiciones del ensayo se aprecia también la estimulación por poliaminas de la síntesis de fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP2), que se sintetiza en menores cantidades por estas membranas.

[Trabajo apoyado por el DIB, Universidad de Chile, FONDECYT, y The Council for Tobacco Research.]

**ESTUDIO DE LA CAPACIDAD FOTOREACTIVANTE EN BACTERIAS DEL GENERO CLOSTRIDIUM.** (Photoreactivating capacity in bacteria of the genus *Clostridium*). Carrasco, A. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La irradiación de células con luz ultravioleta (220-300nm) puede resultar en la formación de dímeros de pirimidina en el DNA los que conducen a cambios mutagénicos o muerte celular. Existen varias vías de reparación del daño inducido por radiación UV. Estas incluyen fotoreactivación, reparación por excisión, reparación recombinacional y reparación error-prone. Se conoce poco acerca de las capacidades de reparación presentes en bacterias anaeróbicas y la reparación fotoreactivante no ha sido investigada en *C. butírico*.

El objetivo de este estudio fue determinar si *C. butírico* y aislados anaeróbicos nativos pueden reparar su DNA-UV dañado mediante el mecanismo de fotoreactivación.

Las células fueron crecidas hasta fase exponencial media en caldo nutritivo-P2. Fueron colectadas por centrifugación, lavadas y resuspendidas en buffer fosfato 10mM, pH 7.0. Diez ml de la suspensión fueron irradiados con una lámpara germicida (254nm) por diferentes tiempos. La mitad de la alícuota tratada fue mantenida en la oscuridad. La otra mitad fue expuesta a luz fotoreactivante durante 60 min. Se determinó el conteo viable después de un período de incubación de 1-2 horas. Se graficó la fracción de sobrevivida versus dosis UV.

Los resultados obtenidos demuestran la carencia de fotoreactivación en esta especie de *Clostridium*. Se compara esta capacidad en aislados anaeróbicos nativos de potencialidad biotecnológica.

**HIDROLISIS DE FOSFATIDILINOSITOL-4,5-BISFOSFATO EN MEMBRANAS DE TUBULO TRANSVERSAL DE MUSCULO ESQUELETICO.** (Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate hydrolysis in transverse tubule membranes from skeletal muscle). Carrasco M.A. Dpto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, U. de Chile.

Membranas aisladas de túbulo transversal de músculo esquelético de rana incubadas con  $[32P-^3\text{P}]\text{ATP}$ , fosforilan fosfatidilinositol endógeno formando fosfatidilinositol 4-fosfato (PIP) y fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP2).

La incorporación de  $32P$  en ambos fosfoinosítidos es máxima en pocos segundos, manteniéndose relativamente constante en PIP en los primeros 2 a 3 minutos. Paralelamente, los niveles de PIP2 disminuyen al 50% o menos.

Este último resultado no se presenta en membranas preincubadas con TX-100 o con neomicina. Además, ambos compuestos aumentan la incorporación de  $32P$  tanto en PIP como en PIP2. TX-100 inhibe la actividad de la enzima Mg-ATPasa presente en estas membranas con la consiguiente mayor disponibilidad de ATP para la fosforilación. Neomicina, antibiótico aminoglicosídico, interactúa específicamente con los fosfoinosítidos y no afecta la actividad de la Mg-ATPasa.

Se discuten los mecanismos involucrados en la hidrólisis del PIP2, precursor de inositoltrisfosfato (InsP3), posible mediador fisiológico del acoplamiento excitación-contracción en músculo esquelético.

Financiado por NIH GM 35981, MDA, FONDECYT 1340, DIP 2123, DIB 2149.

MECANISMO CINÉTICO DE LA OCTOPINA DESHIDROGENASA. (Kinetic mechanism of Octopine Dehydrogenase). N. Carvajal y E. Kessi. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción. \*(Patrocinio: R. González)

La octopina deshidrogenasa (EC 1.5.1.11) cataliza la reacción terminal de la glicólisis ( $\text{NADH} + \text{piruvato} + \text{arginina} \rightleftharpoons \text{octopina} + \text{NAD}^+$ ) en distintos tejidos de muchas especies de invertebrados marinos, y en especial, de los moluscos gástrópodos.

La enzima de músculo de *Concholepas concholepas* es una proteína monomérica (peso molecular 42.000), con pH óptimos de 7.0 y 8.7 para las reacciones de síntesis y oxidación de octopina, respectivamente, y que presenta una gran especificidad por los sustratos NADH, arginina y piruvato.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en estudios de velocidad inicial y de inhibición, tanto por productos como por inhibidores de punto muerto (dead end), realizados para definir el mecanismo cinético de la enzima. Los resultados obtenidos están de acuerdo con un mecanismo parcialmente al azar, en que el NADH es el primer sustrato y la arginina y el piruvato se unen al azar al complejo binario Enzima-NADH. Los resultados descartan la posibilidad de que el NAD (o el NADH) se unan a la enzima en una etapa en equilibrio, como se ha sugerido para la enzima del molusco *Pecten maximus*.

Proyecto 20.31.19 DIC, UNIVERSIDAD DE CONCEPCION.

CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA EXTERNA DE *Aeromonas Spp.* (Characterization of Outer membrane proteins from *Aeromonas Spp*) G. Castillo, V. Saenger, V. Hinrichsen., G. Figueroa y A. Yudelevich Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile, e INTA, universidad de Chile Casilla 114-d Santiago.

Existe creciente evidencia que vincula a la especie *Aeromonas* como agente enteropatógeno, sin embargo solo algunas especies parecen tener capacidad de adhesión e invasividad. Es posible que estas capacidades dependan en gran medida de componentes de la membrana externa. Con el objeto de definir el rol de las proteínas de la superficie celular en patogenicidad y por otra parte establecer criterios taxonómicos útiles que permitan diferenciar especies patógenas de no patógenas hemos iniciado el estudio de caracterización de proteínas de membrana externa de *Aeromonas*. Para ello se prepararon membranas externas de *Aeromonas* que fueron analizadas en geles de poliacrilamida-SDS. Se pudo establecer que las diferentes especies de *Aeromonas* (*Aeromonas Hydrophila*, *Aeromonas Sobria* y *Aeromonas Caviae*) pueden distinguirse mediante su perfil de proteínas de membrana externa. Se pudo establecer además que para *Aeromonas Sobria*, que es la especie con mayor potencial patógeno, existen 5 proteínas mayoritarias con peso moleculares entre 25 - 60 kD. Se purificó una de estas proteínas de 39 kD con características de porina y se prepararon anticuerpos policlonales contra ella. Además se identificó una proteína modificable por calor similar a la OMP A de *E.Coli* pero que a diferencia de esta no presenta reacción cruzada con anticuerpos anti-porina de *Aeromonas*.

CARACTERIZACIÓN INMUNOQUÍMICA DE LAS PORINAS DE *Salmonella typhi* (Antigenic characterization of *Salmonella typhi* porins). Castillo, A., Calderón, I. y Mora, G.C. Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La membrana externa (ME) de *Salmonella typhi* Ty2 se analizó por la técnica de "immunoblotting" empleando sueros de pacientes convalescentes de tifoidea. De este modo se detectan en la ME una gran variedad de antígenos; proteínas y lipopolisacáridos (LPS). Entre las proteínas, la flagelina presentó la reacción antigénica más fuerte, mientras que las porinas monoméricas no presentan ninguna reacción. Las porinas monoméricas se obtienen por calentamiento a 100°C por 5 min. En cambio, las porinas triméricas, que es la forma de asociación que presentan en la ME, resultaron ser fuertemente antigénicas.

Usando "immunoblotting" fue posible determinar además que, las porinas triméricas nativas de *Salmonella typhi* Ty2 presentan reactividad antigénica cruzada con las de *Salmonella typhimurium*, pero no con las de *Escherichia coli* K12.

Se estudió por "immunoblotting" e "immunodot" la sensibilidad de la detección de anticuerpos anti-porinas, anti-LPS y anti-flagelina. Por el primer método, hasta en diluciones de  $10^{-3}$  de los sueros, los tres antígenos son fácilmente detectados. Por el segundo método, las porinas presentan la reacción antigénica más fuerte a bajas diluciones de los sueros ( $10^{-2}$ ).

Estos resultados indican que, las porinas triméricas son buenos antígenos *in vivo* cuyos epítopos son discontinuos y se encuentran ubicados en regiones expuestas de la superficie bacteriana. Por lo tanto, estas proteínas podrían emplearse en la inmunoprofilaxis de la tifoidea.

DESARROLLO DE HABILIDADES COGNITIVAS INDUCIDAS POR EFECTO DE LA ESTIMULACIÓN PRECOZ EN LA RATA GRIS. (Development of cognitive abilities induced by early stimulation in pigmented rats). Castro, M.E., Saavedra, M.M., Gutiérrez, M., Morales, I. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile. (Patrocinio: Fernández, V.).

Numerosos trabajos experimentales demuestran el efecto de la condición estimulación medio enriquecido en etapas tempranas sobre cambios conductuales en el adulto. Estos se refieren a aprendizajes simples, tipo discriminación. No hay estudios sobre el efecto en los procesos cognitivos o procesamiento de la información. Postulamos que un método adecuado para evidenciar estas habilidades relacionadas con "conducta inteligente" podría ser la batería de laberintos de Hebb Williams modificada.

Se usaron dos grupos de ratas macho pigmentadas, el experimental (N=5) estimulado precozmente entre los días 10 a 24 y el control N=5 que se mantuvo en condiciones standard.

A los 5 meses de edad se entrenaron en 6 laberintos de la serie Hebb Williams lográndose el criterio preestablecido de aprendizaje. Las ratas estaban privadas de agua 23 horas antes de cada sesión. En una segunda etapa ambos grupos se enfrentaron a los mismos laberintos a los cuales, esta vez, se agregó un obstáculo adicional diferente para cada laberinto.

Se compararon ambos grupos en base a los siguientes índices: latencia, tiempo recorrido total y número de errores.

Los sujetos estimulados se diferenciaron significativamente en todos estos índices ( $p < .05$ ) con respecto al control. Se concluye que la estimulación temprana favorece el desarrollo de las habilidades cognitivas implicadas en la conducta de resolución de problemas.

Financiamiento parcial 560/87 FONDECYT a Teresa Pinto-Hamuy.

EFFECTO DE CYTOCHALASIN D Y COLCEMID SOBRE LA BARRERA HEMATO-TESTICULAR EN LA RATA. (Effect of Cytochalasin D and Colcemid on the blood-testis barrier in the rat.) Cavicchia, J.C., Ortiz, H.E. Instituto de Histología y Embriología. Fac. de Ciencias Médicas. UNC. Mendoza. Argentina.

Para estudiar la importancia de microtúbulos y microfilamentos citoplasmáticos sobre las uniones inter-sertolianas responsables de la barrera hemato-testicular se utilizó Cytochalasin D (10 ug/rata) con acción depolimerizadora de microfilamentos y Colcemid (5x10<sup>-4</sup> M) con acción sobre microtúbulos. El material se estudió con técnicas de criofractura y trazadores electro-opacos intravascularmente. A una hora de la administración por micro-manipulación de Cytochalasin D en el interior del túbulo seminífero se desorganizan los haces de microfilamentos de las uniones Sertoli-Sertoli y Sertoli-células germinales con dilatación de las cisternas asociadas. Hay disrupción de la barrera hemato-testicular con penetración del hidróxido de lantano. A las 24 horas ninguno de los componentes de estas uniones: uniones estrechas-microfilamentos-cisternas asociadas, son observados. Desaparecen por criofractura los componentes intramembranosos de las uniones. El Colcemid depolimeriza el aparato microtubular sertoliano pero no afecta a los del axonema o del manchete de las espermátides. Sin embargo a la hora y 24 horas del tratamiento las uniones observadas en cortes finos o por criofractura están indemnes sin alteración de la barrera. Se concluye que las uniones Sertoli-células germinales y las uniones inter-sertolianas, substrato morfológico de la barrera hemato-testicular, dependen de microfilamentos del citoesqueleto pero no del aparato microtubular citoplasmático.

MOVILIZACION DE GENES DE RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS EN ACINETOBACTER CALCOACETICUS. (Mobilization of antibiotic resistance genes in Acinetobacter calcoaceticus). Chabouty, H., Henríquez, M., Montoya, R., Zemelman, R. Departamento de Biología Molecular y Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción.

Cepas de *A. calcoaceticus* (12) aisladas de productos patológicos, presentan resistencia múltiple a antibióticos beta lactámicos, cloranfenicol (Cm), sulfametoxazol (Su), sulfametoxazol/trimetoprim (Su/T), gentamicina (G) y kanamicina (7) y son susceptibles a tetraciclina (T) estreptomina (E), rifampicina (R) y kanamicina (5).

Dos cepas presentaron un plasmidio de 2 megadaltones en masa. Experimentos de curación (bromuro de etidio, naranja de acridina) confirmaron la ausencia de plasmidios de resistencia. La cepa *A. calcoaceticus* 64 (T<sup>R</sup>, K<sup>R</sup>, G<sup>R</sup>, Su<sup>R</sup>) se utilizó como receptor de plasmidio RP4 obteniéndose transconjugantes T1 (T<sup>R</sup>, K<sup>R</sup>, Cm<sup>R</sup>, G<sup>R</sup>, Su<sup>R</sup>). Los transconjugantes T1 fueron conjugados con *E. coli* K12 (L<sup>+</sup>, AN<sup>R</sup>) obteniéndose dos conjuntas: T2 (L<sup>+</sup>, AN<sup>R</sup>, TR, R<sup>R</sup>) y T'2 (L<sup>+</sup>, AN<sup>R</sup>, R<sup>R</sup>, K<sup>R</sup>, Cm<sup>R</sup>, Su<sup>R</sup>).

Las cepas T1 y T'2 crecidas en presencia de agentes curadores pierden los genes de resistencia de T, K, y T y G, respectivamente. Sólo se detectan bandas plasmidiales en T'2 y T'2 curadas.

En experimentos de transformación de *E. coli* K12 con plasmidios provenientes de T'2 curadas se obtuvieron transformantes K<sup>R</sup>, Cm<sup>R</sup>, Su<sup>R</sup>.

Estos resultados permiten concluir que los determinantes de resistencia a G, Cm y Su en *A. calcoaceticus* se encuentran codificados en transposones integrados en el ADN cromosomal.

PATRONES DE DESCOMPOSICION DE HOJARASCA EN EL DESIERTO DE CHIHUAHUA, NM, USA. (Litter decomposition patterns in the Chihuahuan Desert, NM, USA). Cepeda, J.G. y Whitford, W.G. Departamento de Biología, Universidad de La Serena y Department of Biology, WMSU, USA.

Debido al efecto regulador del agua sobre la actividad microbiana, generalmente se acepta que la descomposición del recurso vegetal es lenta en ambientes áridos. Con el propósito de contrastar esta hipótesis se estudiaron los patrones de descomposición de hojarasca de seis especies dominantes de una cuenca hidrológica del Desierto de Chihuahua (MN, USA).

En cada zona vegetal a lo largo de un transecto, se compararon las pérdidas de masa entre la hojarasca de la especie vegetal dominante y la hojarasca del arbusto *Larrea tridentata*. Las hipótesis de trabajo fueron: (1) la tasa de descomposición de hojarasca de *L. tridentata* es mayor donde las condiciones de humedad y materia orgánica son más favorables para la actividad de los organismos descomponedores, y (2) la tasa de descomposición de la hojarasca de la especie dominante de la zona vegetal es mayor que la de la especie transplantada por una acción más eficiente de los organismos descomponedores.

Contrariamente a lo esperado, se obtuvieron valores iniciales altos de reducción de masa. El modelo doble exponencial describió más eficientemente las tendencias que los modelos exponencial simple y asintótico.

Los resultados sugieren que ciertos factores abióticos (p.e., alta radiación, amplias oscilaciones térmicas y escorrentía) juegan un papel clave en las pérdidas iniciales de masa. Consecuentemente, para una mejor comprensión de los procesos de descomposición del recurso vegetal en desiertos cálidos se hace necesario distinguir entre procesos de reducción abiótica y descomposición biótica.

ENZIMAS QUE REDUCEN TELURITO DE POTASIO Y OTROS OXIANIONES EN BACTERIAS DEL GENERO *Thermus*. (Enzymes which reduce potassium tellurite and other oxyanions in bacteria belonging to the genus *Thermus*). Chiang, M. y Vásquez, C. Depto Bioquímica y Biología Molecular. Fac. de Ciencias y Farmacéuticas. U. de Chile.

Se estudió y caracterizó el(los) producto(s) del (de los) gan(ese) que codifica(n) para la resistencia a sales de telurio en *T. thermophilus* H88.

Cuando se cultivó *T. thermophilus* y *T. flavus* AT 62 y *Pseudomonas* sp. en medios suplementados con K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub>, se formó un depósito negro intracelular de telurio metálico. Los termófilos fueron también resistentes a sulfito, selenito y muchos otros iones tóxicos.

Extractos crudos de *T. thermophilus* H88 catalizan la reducción *in vitro* de K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub>, en una reacción dependiente de la oxidación de NADH. Se encontró que una proteína era la responsable de esta actividad y se denominó telurito reductasa.

Se identificó en *T. thermophilus* H88 tres fracciones con actividad reductasa. Dos de ellas poseen alta masa molecular (1-1,3x10<sup>6</sup> dal) y están constituidas por a lo menos dos polipéptidos. La tercera está compuesta por un único polipéptido de 53 - 54 kdal. Estas reductasas reducen además, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> y Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> *in vitro*, siendo el cofactor reemplazable por NADPH. Cationes divalentes como Zn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup> y Cu<sup>2+</sup> suprimen esta actividad, sugiriendo la participación de grupos sulfhidrilo en la catálisis.

La relación entre la viabilidad celular y la actividad reductasa *in vitro* sugiere que la presencia de la enzima permite a estas bacterias reducir K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> y también aumentar la tolerancia a esta sal. Los resultados de este trabajo sugieren que esta actividad puede ser un producto clonable y ser utilizado a futuro, como un potencial marcador genético.

FINANCIADO POR DIB B 2318 8723, IFS E/834-1

CANALES IONICOS EN VESICULAS DE SARCOLEMA DE RANA. (Ion channels in frog sarcolemmal vesicles). Cifuentes, F. y Suárez, B. Depto. Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, U. de Chile y Centro de Estudios Científicos de Santiago.

A pesar de la gran cantidad de trabajo realizado en el área, se desconocen los mecanismos moleculares del proceso de acoplamiento excitación-contracción. Sin embargo, es evidente que en las diversas etapas de este proceso están involucrados, directa o indirectamente, canales iónicos localizados en las diferentes membranas de la fibra muscular esquelética.

Se estudiaron los canales iónicos presentes en vesículas de sarcolema preparadas a partir de músculo Sartorius de *Caudiverbera caudiverbera* adulta según la técnica de Standen y cols. (1). Para esto, se incubaron los músculos en soluciones isotónicas de KCl (120 mM) con colagenasa (3 mg/ml, 2 h) seguido de pronasa (0,2 mg/ml, 2 a 3 h). Este tratamiento genera numerosas vesículas de ca. 100 nm de diámetro, aptas para registro de corrientes unitarias mediante la técnica de "patch-clamp".

En condiciones de registro simétricas ("excised patch") (KCl 120 mM, MgCl<sub>2</sub> 2 mM, EGTA 1 mM; pipeta y baño) se observó: a) un tipo de canal activado por pulsos depolarizantes con una conductancia de 20 pS. b) un canal de 50-64 pS, que muestra rápidas fluctuaciones de apertura y cierre espontáneas. La probabilidad de apertura es dependiente de voltaje, disminuyendo a potenciales positivos. La curva I-V es sublineal a potenciales mayores que +10 mV. c) En la actualidad se caracterizan canales de sodio con el propósito de estudiar a nivel de canal único dos poblaciones descritas en fibra muscular intacta.

(1) Proc. R. Soc. Lond. 221, 455-464 (1984). Financiado por proyectos NIH GM35981 y FONDECYT 598. DIB 2123.

USO DE METODOS GENETICOS PARA EXCLUSION Y ATRIBUCION DE PATERNIDAD EN CHILE. (Genetic Paternity Counseling in Chile). Cifuentes, L., Cruz-Coke, R., Armanet, L., Lyng, C. Servicio de Genética y Banco de Sangre del Hospital Clínico de la Universidad de Chile, Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La reciente incorporación del método Bayesiano al estudio de paternidad permite estimar con probabilidad a posteriori, la atribución positiva de paternidad.

Hemos analizado 30 consultas por paternidad dudosa que concurren al Servicio de Genética del Hospital Clínico de la Universidad de Chile, en las cuales la madre, el hijo y el padre putativo fueron estudiados con cuatro marcadores genéticos: sistemas ABO, Rh, MNSs y Duffy. Dadas las frecuencias génicas chilenas, la probabilidad de excluir a un falso padre es de un 62.58%. Los resultados revelan sólo dos individuos que fueron excluidos (8%). En países anglosajones el porcentaje de exclusión es superior al 30%. El bajo porcentaje de exclusión en esta muestra indicaría que entre las parejas que consultan, la gran mayoría de los padres putativos, son realmente los verdaderos padres. Hubo 2 casos de atribución positiva de paternidad con probabilidad a posteriori del 95%. Los 4 marcadores genéticos usados en esta muestra, tienen una sensibilidad de 0.67, una especificidad de 1 y un valor predictivo positivo de 1, en la detección de un hombre falsamente acusado de ser padre, lo que confirma que se trata de un método eficiente de identificación de paternidad.

Influencia del pisoteo sobre el estrato herbáceo. (Influence of tread on over the grass.)

Cisternas R.E. Depto. de Biología y Química, Facultad de Ciencias Universidad de Talca. Se analizó el efecto del pisoteo causado por el hombre sobre el estrato herbáceo del matorral. El análisis incluye medidas de abundancia, diversidad específica y valor de importancia de la comunidad herbácea.

El sitio de estudio se ubica en el lugar llamado "Millahué de Apalta", a 16 Km. de Santa Cruz (6a. Región-Chile). Se incluye el análisis de las hierbas en pradera abierta y bajo arbustos, con diferentes estados de humedad del suelo. La diversidad específica medida según el índice de Shannon (H'), aumentó en el área pisada, para casi todos los sistemas, pero disminuyó al ser medida sólo, por el número de especies presentes (S). Según su reacción frente al ruido provocado por el pisoteo, las especies pudieron ser clasificadas en a) sensibles, tienden a desaparecer de los lugares pisoteados: *Orthocarpus* sp, *Sherardia arvensis*, *Erodium moschatum*, *Hypochoeris* sp y musgos. b) favorecidas, especies que aparecen después que el lugar ha sido alterado: *Callitriche deflexa* y *Aira caryophylla*. c) indiferentes tienden a estar presentes siempre, sin importar la condición del lugar con leves variaciones en número: *Poa annua*. d) de comportamiento mixto son sensibles en un sistema e indiferentes en otro, al ruido del pisoteo: *Plagiobothrys fulvus*, *Micropis nana*, *Chaethanthera moenchioides*, *Melicope hispida* y *Euphorbia peplus*.

IDENTIFICACION INMUNOLOGICA DE PROTEINAS HISTONICAS DE ESPERMATOZOIDE EN CIGOTOS DE ERIZO DE MAR. (Immunological identification of sperm histones in zygotes of sea urchin). Cisternas, E., Pimentel, C., Inostroza, D., Imchenetzky, M. Depto. Biología Molecular y Depto. Bioquímica Aplicada. Universidad de Concepción.

La formación del pronúcleo masculino implica una descondensación de la cromatina que se correlaciona con la pérdida de proteínas cromosomales. La data existente sobre prevalencia de histonas espermáticas (SpH) post in seminación (p.i.) proviene de modelos poliespérmicos en que SpH se pierde inmediatamente p.i. y las 4 histonas del core son liberadas post amixis. Con el objeto de investigar la cinética de desaparición de las SpH en embriones normales y de determinar la dependencia de este proceso de proteínas neosintetizadas, las SpH fueron detectadas inmunológicamente en cigotos obtenidos a distintos tiempos p.i. en presencia y ausencia de emetina.

Las histonas purificadas de cigotos obtenidos a los 3, 7, 20, 30, 40 y 70 min. p.i. fueron analizadas por Western blot de geles de poliacrilamida al 18% SDS incubados con anticuerpos policlonales anti SpH de conejos y revelados con el sistema Streptavidina-peroxidasa biotinilada-HRP color.

Los resultados obtenidos indican que en cigotos normales, a diferencia de los poliespérmicos, las SpH del core nucleosomal prevalecen hasta los 20 min. p.i. mientras que H1 se detecta hasta tiempos posteriores a la amixis. La pérdida de estas proteínas es independiente de proteínas neosintetizadas.

**CONECCIONES NEURALES DE LOS RECEPTORES CAROTIDEOS: UN ESTUDIO CON WGA-HRP EN EL GATO.** (Neural connections of the carotid receptors: a WGA-HRP study in the cat). Claps, A. y Torrealba, F. Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile.

Se estudió, por separado, las conexiones neurales del cuerpo carotídeo (CC) y del seno carotídeo (SC) mediante la administración de HRP o WGA-HRP a cada uno de estos receptores, en gatos adultos.

Encontramos que ambos receptores carotídeos se proyectan bilateralmente al bulbo raquídeo, exclusivamente sobre el núcleo del tracto solitario. Existe una extensa sobreposición en la representación central de CC y SC en los subnúcleos: dorsal, intersticial, intermedio, medial y la porción medial del comisural. Además, el SC proyecta a los subnúcleos: dorsolateral, comisural en toda su extensión, ventrolateral y sustancia gelatinosa.

Se contaron las neuronas marcadas que inervaban a estos receptores. En el ganglio petroso el promedio fue de 256 (E.S. = 79) para el caso del CC y de 216 (E.S. = 37) para el SC. La mediana de las áreas medidas en estas neuronas fue de 536  $\mu\text{m}^2$  para el CC y 437  $\mu\text{m}^2$  para el SC. Para el SC además encontramos un promedio de 825 (E.S. = 434) neuronas sensoriales en el ganglio nodoso, con una mediana de 836  $\mu\text{m}^2$ . Cada receptor carotídeo evidenció, también una inervación eferente, representada por alrededor de 4000 neuronas marcadas en el ganglio simpático cervical superior. Estos receptores no reciben eferencias de neuronas cuyos somas se encuentren en el sistema nervioso central.

Financiamiento : DIUC, FONDECYT, PNUD-UNESCO.

**FACTORES GENÉTICOS ASOCIADOS A CEPAS DEL GÉNERO *Salmonella* AISLADAS DE PACIENTES CON FIEBRES ENTERICAS (Genetic factors associated to *Salmonella* strains isolated in enteric fever diseases).** Cofré, G., Campos, S., Riveros, O. y Pichuanes, S. Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Algunos plásmidos que codifican para la producción de bacteriocinas y para la resistencia a la acción bactericida del suero, han sido implicados en la patogenicidad de *Escherichia coli*. Sin embargo, dicha asociación aún no se ha investigado en *Salmonella*. Considerando que las fiebres entéricas constituyen enfermedades endémicas en nuestro país y que varias cepas estudiadas presentan elementos extracromosómicos, hemos abordado este aspecto del problema.

El estudio incluye 53 cepas de *S. typhi*, *S. paratyphi A* y *S. typhimurium*, aisladas de pacientes del Hospital de Enfermedades Infecciosas. El análisis del patrón electroforético de los plásmidos detectados en las diferentes cepas, permitió determinar que más del 90% de las cepas de *S. typhi* poseen 1-2 plásmidos de alto peso molecular (>50 Kb). En relación a *S. paratyphi A*, se observa que la mayoría exhiben 2-3 plásmidos, uno de los cuales tiene un tamaño de alrededor de 3-4 Kb. Las cepas de *S. typhimurium* presentan 4 plásmidos de amplio rango de peso molecular. Varios de los plásmidos están asociados a resistencia a antibióticos y algunos de ellos codifican para la producción de bacteriocinas. Ambas propiedades son transferidas a *E. coli* C600 mediante conjugación y transformación.

Los resultados de los experimentos de transferencia génica, capacidad de producción de bacteriocinas y comportamiento frente a la acción bactericida del suero, se discuten en relación a su posible contribución a la patogenicidad bacteriana.

(Financiado por DIUC 76/87).

**EFFECTO DE ANTIOXIDANTES FENOLICOS SOBRE UNA NUEVA CEPA DE *TRYPANOSOMA CRUZI*.** (Effects of phenol antioxidants on a new strain of *Trypanosoma cruzi*). Coloma, L. (1) Vásquez, X. (2), Aldunate, J. (2). (1) Departamento de Biología, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación, (2) Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La enfermedad de Chagas, causada por el *Trypanosoma cruzi*, afecta aproximadamente a 12 millones de pacientes en Latinoamérica. No se ha encontrado un tratamiento efectivo contra el *T. cruzi* siendo éste resistente a las drogas en uso. Hemos demostrado que Tert-butyl-4-hidroxianisol (BHA) y el di-Tert-butyl-4-hidroxitolueno (BHT) aditivos de uso corriente en los alimentos inhiben el crecimiento de los epimastigotes de la cepa Tulahuén y el consumo de  $\text{O}_2$ . En esta presentación damos cuenta del efecto de estas drogas sobre epimastigotes de la cepa LQ. Esta cepa, aislada de un paciente del norte de Chile presenta características bioquímicas que la distinguen de la cepa Tulahuén. El crecimiento de los cultivos se determinó por nefelometría y el consumo de  $\text{O}_2$  polarográficamente con un electrodo Clark. Al estudiar el efecto de estas drogas se observó inhibición del crecimiento en forma similar a la cepa Tulahuén. También se observó inhibición del consumo de  $\text{O}_2$  lo que llevado a un gráfico de Dixon, muestra una curva bimodal, que sugiere que hay dos tipos de inhibiciones. También se observó inhibición de la respiración en presencia de BHA y BHT con un desacoplante (CCCp) lo cual indica que el efecto de los antioxidantes es a nivel de la respiración celular. Estudios posteriores nos dilucidarán si el efecto es en dos sitios de una misma cadena respiratoria o en dos cadenas diferentes.

Financiado por UNDP/WB/WHO/TDR, por FONDECYT Chile 4-1987 y DIB Universidad de Chile B-1854

**EL HAMSTER *CRICETUS AURATUS*. MODELO EXPERIMENTAL PARA EL ANALISIS DE LA ACCIÓN DEL ETANOL SOBRE EL DESARROLLO INTRAUTERINO.** (Hamster *Cricetus auratus*. Experimental model for the ethanol action analysis on the intrauterine development). Coloma-Sanhueza, L., Bardisa, L., Lazo, O. Depto. de Histología y Embriología, Fac. de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad Concepción.

El Síndrome Alcohólico Fetal (SAF) ha sido descrito en humanos y se han realizado estudios experimentales en algunos animales de laboratorio. Se ha confirmado la teratogenicidad del etanol pero el mecanismo íntimo de cómo este agente lo induce, no es conocido. Se utiliza como modelo hembras gestantes de hamster *Cricetus auratus* para observar los efectos adversos de la ingesta aguda del etanol. Estos roedores se caracterizan por su corto periodo de gestación (16 días) y las hembras por la precocidad en alcanzar su etapa reproductiva (6 semanas).

Se cruzaron hembras vírgenes y la copulación fue comprobada por análisis microscópico de frotis vaginal. Al 8<sup>o</sup> día de desarrollo se inyectaron intraperitonealmente las hembras gestantes 2 dosis de etanol 25% v/v (a las 8.0 y 12.0 hrs) y a las controles dosis de solución isocalórica de sacarosa a las mismas horas. A los 11 días del desarrollo hembras controles y tratadas fueron sacrificadas para extraer y analizar morfológicamente sus embriones en desarrollo.

Los resultados del estudio morfológico externo muestran notables diferencias entre la descendencia de hembras controles y tratadas, estas últimas presentan disminución de peso y N° de somitas, retraso en la formación de procesos faciales, boca y aparato branquial, menores longitudes en los parámetros: cefalocaudal, largo espinal, diámetro cefálico, extremidades. Estos resultados preliminares demuestran la acción teratogénica del etanol sobre el desarrollo intrauterino y permiten realizar interpretaciones de las respuestas embrionarias a teratógenos.

*Percichthys trucha* Valenciennes (Pisces Percichthyidae). Caracterización de su biología en un embalse templado. Comte, Sh., Vila, I., Zolezzi, C. Depto. Ciencias Ecológicas. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La "perca" *Percichthys trucha* Valenciennes es un pez autóctono de la subregión austral, Provincia chilena y para el cual se conocen géneros fósiles muy similares a los actuales que datan del terciario superior. En Chile se le encuentra preferentemente en aguas frías de 31° a 41°S. Fue de interés estudiar las características biológicas de percas en un sistema léntico artificial templado como es el embalse Rapel.

Entre Junio de 1985 y Junio de 1987 se recolectaron 185 hembras, 75 machos y 20 juveniles en los que se analizó lo siguiente: 1) fecundidad absoluta y relativa a diferente longitud y peso corporal, edad de inicio de maduración, desarrollo de las gónadas e índices de condición y gonadosmático; 2) determinación de la edad y estimación del crecimiento por lepidometría y 3) identificación y recuento de los items alimenticios extraídos del estómago.

La longitud total de las hembras fluctuó de 82 a 485 mm y la de los machos de 92 a 343 mm. La talla mínima de maduración sexual es 69 mm en las hembras y 92 mm los machos. Esto corresponde a una edad estimada de 2 a 3 años. El desove es total y se inicia temprano en la primavera. Los huevos son demersales con abundante mucílago. La fecundidad absoluta fluctúa entre 1.300 y 84.000 oocitos. Los valores máximos de índice de condición de las hembras (126,62) se observaron durante los meses de invierno, coincidiendo con los valores máximos de los índices gonadosmáticos (15,16%).

*P. trucha* es un depredador macrofago que como juvenil consume larvas de insectos acuáticos. Los adultos son ictofagos. Tiene crecimiento lento y baja densidad relativa en este embalse, características que son aun desconocidas e importantes de estudiar en otros ecosistemas. Proyecto DIB N 2450-8613. UNESCO MAB-5.

REORGANIZACIÓN ESTRUCTURAL DE LA CROMATINA DURANTE ESPERMIOGENESIS EN BIVALVOS CHILENOS. (Structural reorganization of the chromatin during spermiogenesis in Chilean bivalves). Concha, I., Gutiérrez, E., Villegas, J., Pardo, J. y von Christ, A. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Durante espermiogénesis el complemento somático y germinal de histonas es reemplazado en forma progresiva por proteínas básicas de menor tamaño, proceso que finaliza con la transformación del genoma haploide en una cromatina altamente condensada llamada nucleoprotamina. Sin embargo, en algunas especies coexisten asociadas al DNA, histonas y protaminas como es el caso de los bivalvos chilenos estudiados (*Choromytilus chorus* y *Aulacomya ater*). Al analizar especímenes de distinto tamaño y por ende de diferente estado de desarrollo gonadal, se encontró una estricta relación entre la aparición de un perfil electroforético complejo, donde prima la protamina y la proliferación y población de los acinos espermiogénicos de la gónada, esto último se determinó mediante microscopía óptica y electrónica.

La protamina es una proteína básica compuesta de alrededor de 59 residuos y un PM de 6450. La secuencia parcial de aminoácidos (19 ciclos) deaustera Pro como amino terminal y la presencia de una secuencia básica en la que se alternan residuos de Ser y Arg. Esta secuencia comparada con la de otras especies pareciera constituir una secuencia de consenso.

Las proteínas básicas han sido purificadas mediante extracción diferencial con ácidos (acético y clorhídrico) y cromatografía en Fractogel TSK HW-55. Especial atención se ha puesto en la purificación de una proteína de PM 12.000 que presenta una notable semejanza a las histonas H<sub>1</sub>. Esta proteína tiene un SAQ de 31 al compararla con H<sub>1</sub> de gallina (un tipo especial de H<sub>1</sub>), mientras que con H<sub>1</sub> de bovino el SAQ es 311. El pequeño valor de SAQ al compararla con H<sub>1</sub>, sugiere una relación ancestral entre estas proteínas. Finalmente al fragmentar esta "pequeña" H<sub>1</sub> con N-Bromosuccinimida se originan dos fragmentos con semejanzas estructurales a las "cabezas" y "colas" de las H<sub>1</sub> típicas.

Financiado por proyectos: RS-85-10 DID, UACH y Granja Marina Tornagaleones.

TYMPANOCTOMYS, UN MAMIFERO DESERTICOLA CON EL NUMERO DIPLOIDE MAS ALTO. (Tymanoctomys, a desert mammal with the highest diploid number). Contreras, L.C. & Torres-Mura, J.C. Depto. Biol. & Quím. Universidad de Talca, y Secc. Zool., Museo Nacional Historia Natural.

*Tymanoctomys barrerae* es un caviomorfo de las formaciones halófilas del Desierto del Monte en Argentina. Presenta características típicas de roedores de desierto, andar bipedal, pelaje bicolor, buellas timpánicas muy desarrolladas, riñón con médula grande, alta selección de habitat y marcada especialización dietaria. Esto indica que se trata de una especie con un gran número de características derivadas.

Con el objeto de establecer sus relaciones con otros miembros de la familia, se realizó un estudio cariológico en tres ejemplares usando células de médula ósea pretratadas con colchicina 0.01% y teñidas con Giemsa.

Sorprendentemente *T. barrerae* presenta un 2N=102, con 36 pares de cromosomas metacéntricos y submetacéntricos, 13 pares subtelocéntricos y un par telocéntrico con el mayor número diploide conocido en los mamíferos. El cromosoma X es un metacéntrico de gran tamaño y el Y es un submetacéntrico de tamaño pequeño.

Este cariotipo dista en número enormemente del cariotipo de otros octodontidos conocidos. Sin embargo, en él se pueden distinguir características compartidas con las otras especies de la familia. Por ejemplo la morfología de los cromosomas sexuales y del par NOR, entre otros. Si un alto número de cromosomas indica un cariotipo ancestral entonces encontramos aquí la ocurrencia simultánea de caracteres fenotípicos derivados con un cariotipo ancestral.

Parcialmente financiado por Proyecto DIUP 038 (U. de Talca), DIB (U. de Chile) B-2689, y FONDECYT 535-1987.

FACTORES FAVORABLES DEL AMBIENTE LIMNICO SOBRE EL ABREO PARA EL DESARROLLO DE LA BIOTA ANTARTICA (LAGO KITIESH, 62°S. 59°E) (Favorable factors of limnic over serial environment in antarctic biota). Contreras, M. y Cabrera, S. Depto. Cs. Ecol., Fac. Ciencias y Depto. Biol. Cel. y Gen., Fac. Medicina, Universidad de Chile.

El ambiente aéreo antártico muestra grandes fluctuaciones en la irradiancia y la temperatura; los cuales son factores fundamentales para la tasa de fotosíntesis. Esto es diferente a 6 m de profundidad en el Lago Kitiesh. Antecedentes obtenidos en los veranos de 1984, 85 y 87 en la antártica chilena señalan que los fondos de lagos, son sitios muy favorables para la biota durante todo el año. Lago Kitiesh es el más grande de la Isla Rey Jorge (91350 m<sup>2</sup>, Z<sub>max</sub> 9.8 m y Z 4.6 m). Cubierto de hielo entre marzo y diciembre, excepcionalmente en enero 1987 se observó una cubierta de hielo de hasta 1 m de espesor. La temperatura del fondo en esta condición fue 2.4°C. Entre enero y marzo es térmicamente homogéneo y alcanza hasta 6°C (1984). En cambio en el aire la temperatura es más fluctuante: -23° y +6.4°C. La irradiancia (RFA) en la superficie alcanza 1800 μE m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> su composición cualitativa es: 31, 43 y 26% respectivamente para azul, verde y rojo. En cambio, el fondo recibe un 12% de la RFA superficial y la composición porcentual con el lago cubierto de hielo es: 24, 73.9 y 2.1% (a-v-r), descubierto: 17, 79.8 y 3.2% (a-v-r). La menor variabilidad del clima limnico, cuanti y cualitativa mente (tendencia a la dicromía a-v), en el fondo y la permanente mayor temperatura sin fluctuaciones drásticas, dan un ambiente más favorable para el desarrollo de comunidades fitobentónicas. Por ello, en esta región, debe ser siempre considerado este sector del lago, al estimar la incorporación de energía solar al ecosistema.

(Financiado por INACH 002 y 038. DIB N 2449-8725 Universidad de Chile).

CARACTERIZACION BIOLÓGICA DE *BROWNINGIA CANDELARIS* (MEYEN) BRITT. ET ROSE, DE LA QUEBRADA DE CARDONES (1800-2200 m.s.n.m.) I REGION. (Biological characterization of *Browningia candelaris* (Meyen) Britt. et Rose from Quebrada de Cardones (1800-2200 m.s.n.m) I Región. Coronado, m., González, K., Pérez, F., Roselló, E., Belmonte, E. Departamento de Biología y Salud, Facultad de Ciencias, Universidad de Tarapacá, Arica.

*Browningia candelaris* es una cactácea característica de la formación desértica, de distribución muy restringida y que habita desde el Sur del Perú (Arequipa) hasta el Norte de Chile (Quebrada de Tarapacá). Debido a que la UICN (1981) cataloga todas las suculentas en la categoría de "vulnerables" y considerando que *B. candelaris* es una especie única del extremo árido de Chile, cuyas poblaciones se encuentran fuertemente diezmadas y muy poco estudiada (Britt. y Rose, 1920; Backeberg, 1959), se realizaron registros mensuales en 433 individuos marcados, ubicados en la Quebrada de Cardones, entre Julio de 1986 y Junio de 1987, con el fin de determinar el patrón fenológico y caracterizar fenotípicamente la planta. Para cada individuo se registró altura total, altura hasta donde llegan las espinas en el tronco, número de ramificaciones del tronco, número de costillas, número de espinas por areola y fenofase. También se registró temperatura, micropendiente y exposición de las laderas. Las yemas florales se presentan a partir de Mayo hasta Agosto; la floración es de Julio a Septiembre y la fructificación de Septiembre a Enero. El crecimiento en altura de la planta se concentra en dos épocas del año: uno antes del período de las grandes lluvias, entre Septiembre y Octubre y otro después de las lluvias, entre Febrero y Marzo, con un incremento promedio mensual de 2,5 cm. Se registró una gran potencialidad intrínseca de regeneración reflejada en la capacidad para formar yemas vegetativas que contrasta y contrarresta en parte la fuerte acción antrópica destructiva.

DEPENDENCIA HIDRICA EN DOS ESPECIES DE *Abrothrix*, *Rodentia-Cricetidae* (Water dependence in two species of *Abrothrix*, *Rodentia-Cricetidae*). Cortés, A. Depto. Biología Universidad de La Serena. (Patrocinio: R. Fernández-Donoso).

*Abrothrix longipilis* (Al) y *A. olivaceus* (Ao), son cricétidos de amplia distribución geográfica, coexistiendo en simpatria en algunas localidades y seleccionando diferentes microhabitats. Así, Al se encuentra en lugares más húmedos respecto Ao. Estos antecedentes sugieren que Al debería presentar un menor grado de eficiencia en la conservación del agua corporal que Ao.

Los aspectos evaluados en Al y Ao (Loc. Fray Jorge) son: Requerimientos hídricos (RH), dependencia al agua exógena (DAE), capacidad de concentración máxima del riñón (CCM), grosor medular relativo (RMT) y evaporación pulmo-cutánea (E).

Los resultados obtenidos indican: 1) los RH de Al difieren de Ao, mostrando Al, un valor de 1.39 veces más alto que Ao. 2) Las tasas de pérdida de peso corporal, tiempo de sobrevivencia y las pérdidas de peso letales, en animales privados de agua, indican que Al presenta un mayor DAE que Ao. 3) La CCM de Al es menor que en Ao (3.252 vs 3.533 mOsm/Kg.sol). 4) Situación similar, se observa en el Índice-RMT, y 5) Las pérdidas de agua por evaporación de Al y Ao, contrastan notablemente (4,46 vs 1,76 mg/g.h.). Los patrones mostrados por estas dos especies, son similares a los encontrados en poblaciones de Valdivia.

En conclusión, las dos especies muestran rasgos morfológicos y fisiológicos en relación a la conservación del agua notablemente disímiles, condición que está estrechamente asociada al tipo de microhabitat.

Financiado por FONDECYT, N° 1412.

ANÁLISIS DE LA REGENERACION DE ALERCE (*Fitzroya cupressoides*) EN DOS CONDICIONES DE HABITAT (Analysis of the regeneration of Alerce (*Fitzroya cupressoides* (Mol). Johnston), in two habitat conditions. Cortés, M. y Donoso, C. Instituto de Silvicultura, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile (Patrocinio: C. Ramirez).

El presente estudio se realizó en la Cordillera de la Costa de la Comuna de La Unión, Provincia de Valdivia. Se cuantifica y califica la regeneración de Alerce encontrada en dos tipos de habitat diferentes; uno de ellos totalmente alterados por incendios ocurridos en la última centuria y otro que corresponde a bosques que no han sufrido alteración aparente. Ambos se ubican sobre los 690 m s.n.m. en la Cordillera Pelada.

Se concluye en este trabajo que el Alerce se comporta como especie pionera en sitios con condiciones restrictivas donde otras especies no son capaces de competir.

UROKININOGENO, UN FACTOR DETERMINANTE EN LA GENERACION DE CININAS. (Urokininogen, a determinant factor in the generation of kinins). Corthorn, J., Berthoud, V., y Silva, R. Laboratorio de Fisiología, Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Las cininas son péptidos vasoactivos que participan en el metabolismo hidrosalino. Estos, son generados por la acción de la caliceína renal sobre el sustrato, cininógeno. Varios autores han demostrado, sin embargo, una falta de correlación entre la caliceína urinaria y la excreción de cininas lo que indica que otros factores tales como la actividad de cininasas, la concentración de cininógeno y cambios iónicos locales pueden alterar la formación y la destrucción de las cininas.

La excreción urinaria de caliceína está significativamente reducida en la hipertensión renal. El propósito de este trabajo fue evaluar la variación de otros componentes del sistema caliceína-cininas, además de la excreción de caliceína, en ratas hipertensas (un riñón, con ligadura de 2 polos). Las ratas hipertensas presentaron una excreción de caliceína urinaria muy reducida, con respecto a las ratas controles uninefrectomizadas; confirmando resultados anteriores de nuestro laboratorio: 16,3±3,5 versus 53,2±6,0 (ng cininas/min) (p<0.001) liberada por minuto hacia la orina. En cambio, las cininas excretadas fueron de 117,4±37,9 pg de BK equivalente/min en las ratas hipertensas y de 8,2±2,3 (p<0.02) en las ratas controles. La actividad cininásica en la orina no explica la falta de correlación entre la caliceína y las cininas ya que la actividad excretada no fue significativamente diferente entre las ratas controles e hipertensas. Por otra parte, se encontró que los niveles de cininógeno en la orina excretada por minuto fue de 27,8±7,0 ng de cininas equivalentes versus 3,6±0,9 (p<0.01) en las ratas hipertensas y controles, respectivamente.

Esto sugiere que, en este modelo experimental de hipertensión renal un factor determinante en la generación de cininas es la cantidad de sustrato disponible.

Financiado por Proyectos DIUC 80 y CONICYT 1187.

**SINTESIS Y EXPRESION DE RECEPTORES FUNCIONALES DE ANGIOTENSINA II EN OOCITOS DE XENOPUS LAEVIS INYECTADOS CON RNAM DE CEREBRO DE RATA.** (Synthesis and Expression of Functional Angiotensin II Receptors in *Xenopus laevis* injected with rat brain mRNA). Cross, D. e Inestrosa, N.C., Universidad de Neurobiología Molecular, Depto. Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile.

Se purificó RNA mensajero (RNAm) y se inyectó en oocitos de *Xenopus laevis*. Los oocitos inyectados fueron superfundidos con una solución de Angiotensina II (AT II), esto tuvo como efecto una variación del potencial de membrana de los oocitos. Esta respuesta fue dependiente de la concentración de AT II usada. También se encontró respuesta a Serotonina, pero no a Bradiquinina. La respuesta a AT II se desensibilizó rápidamente en la presencia continua del agonista, y fue bloqueada por los antagonistas Saralasin (Sar<sup>1</sup>Ala<sup>8</sup> Angiotensina II) y Sa<sup>1</sup>Leu<sup>8</sup> Angiotensina II.

Los RNAm purificados fueron fraccionados por tamaño en geles de agarosa. Se encontró que una fracción de aproximadamente 4.4 kb era capaz de inducir sensibilidad a AT II en oocitos. En este caso la respuesta no se desensibiliza rápidamente en la presencia continua del agonista. Se encontró también que la respuesta a AT II era sensible a Verapamil.

Se concluye que los oocitos de *Xenopus* expresan en su superficie el receptor para AT II luego de ser microinyectados con RNAm cerebral. Estos mensajeros codifican para una proteína de aproximadamente 160.000 de peso molecular.

Financiado por Proyecto DIUC 77/86 y FONDECYT 706/87.

**CAMBIOS MORFOLÓGICOS EN EL COMPLEJO PULVINAR LATERAL POSTERIOR (P-LP) POR INYECCION LOCAL DE ACIDO KAINICO (AK).** (Morphological changes in the pulvinar-lateral-posterior complex after local injection of kainic acid). Cury, M., Stuardo, C., Guzmán, F., Glisner, E., Departamento de Preclínicas, División Ciencias Médicas Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se estudiaron las poblaciones constitutivas del P-LP y su respuesta a ciertas drogas experimentales en el SNC, en este caso AK. Se analizó relación daño-dosis-tiempo, tipo de daño y participación de las diferentes poblaciones celulares en éste. Se usaron tálamos de gatos, 4 sin tratar y 12 inyectados por medios estereotáxicos con AK (1,1,5 y 2 ug en la zona LPI de Updyke). En el tálamo contralateral se inyectaron 2 ul de solución salina como control del daño. A los 7, 14 y 21 días se fijaron por perfusión, preparándose para microscopía óptica (MO) y electrónica (ME). El diámetro del daño no varió significativamente con las diferentes dosis pero aumentó a través del tiempo. El número total de células que reparó el daño aumentó respecto al control no mostrando diferencias significativas entre las dosis usadas, en cambio a través del tiempo, aumentó a los 7 días para ir disminuyendo a los 14 y 21. A mayor dosis el número de oligodendrocitos (O) va decreciendo y el de astrocitos (A) y microglia (M) aumentando. Frente a una misma dosis a través del tiempo los O. decrecieron en forma importante, los A. aumentaron hasta los 14 días para luego disminuir y las M. aumentaron hasta los 14 días. Las neuronas están ausentes. Las células endoteliales no sufrieron variaciones significativas. A ME se ven cambios morfológicos celulares importantes.

Que el tamaño del daño sea independiente de las dosis usadas indicaría que este sería función de la difusión y volumen del vehículo; que aumente a través del tiempo se podría deber a una latencia del daño en neuronas periféricas o al desbalance de aferencias a ellas. Que el número total de células de la reparación sea independiente de la dosis usada se debería a que, gatillado el proceso de reparación sigue un patrón de conducta estereotipada; que este número sufra variaciones a través del tiempo significaría la búsqueda de un equilibrio poblacional congruente con las necesidades metabólicas. La variación individual de las diferentes poblaciones a las dosis y tiempo se debería a una interacción célula-neurona, célula-fármaco.

**SENSIBILIDAD ASIMETRICA DEL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA A BLOQUEADORES DE CANALES DE CALCIO.** (Asymmetric sensitivity to calcium channel blockers in the rat vas deferens). Cruz, F., Laboratorio de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: J. Corthorn).

La farmacología adrenérgica en la mitad epidimaria (E) del conducto deferente es diferente respecto a la mitad prostática (P). Para investigar esta asimetría, se estudió la sensibilidad a fármacos antagonistas de los canales de Ca<sup>++</sup> en ambos segmentos del conducto. Se procedió a estimular directamente los músculos (70V, 10 ms), superfundidos con un buffer Krebs-Ringer de 37°C. La contracción muscular se midió en presencia de tetrodotoxina (0.04 ug/ml), para eliminar el efecto neurogénico. Ambos extremos del conducto generan tensiones proporcionales a la frecuencia de estimulación, siendo la tensión desarrollada en E significativamente mayor respecto a la desarrollada por P. Metoxiverapamil (M) redujo la cuantía de la tensión muscular, afectando significativamente más a E que a P.

El efecto de M sobre la contracción muscular es frecuencia dependiente. Este efecto es más evidente con pulsos de 3 Hz que con pulsos de 10 Hz. Se estudian las curvas dosis respuesta de M y nifedipina en E y P a 3 y 10 Hz; los efectos de nifedipina son antagonizados por BAY K-8644. M es al menos 100 veces más potente para antagonizar la contracción inducida por 3 ó 10 Hz en E comparada con P.

Se estudiará por último, la cinética de absorción de M y nifedipina en los dos segmentos del conducto usando técnicas convencionales de absorciometría.

Se concluye que el tejido tiene una sensibilidad heterogénea a M. Estos resultados sugieren que 1) existan parámetros farmacocinéticos diferentes entre E y P; 2) Existen receptores diferentes para M en E y P; 3) que la densidad de estos receptores sea diferente a lo largo del conducto.

Apoyado por proyecto DIUC 74/86.

**ESTUDIO GENETICO EN GEMELOS. INFORME PRELIMINAR** (Twin studies. Preliminary report). Daher, V., Youlton, R. y Nazer, J. Departamento de Medicina, Departamento de Obstetricia y Ginecología, Hospital Clínico Universidad de Chile. Con el objeto de investigar la zigocidad de los gemelos en Chile, hemos iniciado su estudio utilizando 5 sistemas sanguíneos: ABO, Rh(CDE, cde), MNSS, Kidd, Duffy.

Se investigaron los productos de 14 partos múltiples (13 dobles y un triple) nacidos en el período Junio-Agosto 87 en los Hospitales J.J. Aguirre y San José. Se consideró además los antecedentes familiares y la historia obstétrica de la madre.

Nueve de los 13 pares de gemelos eran de igual sexo (6F y 3M); el triple era de igual sexo (M). De los de igual sexo, 8 compartían los mismos grupos sanguíneos y 2 fueron discordantes. De los trillizos, dos hermanos (incluidos en el grupo anterior) compartían los mismos sistemas sanguíneos y el tercero era discordante. Dos de los 4 pares de distinto sexo también compartían los mismos grupos sanguíneos; los otros dos eran discordantes.

En todos los pares de igual sexo e idénticos grupos sanguíneos (8), el cálculo de probabilidad de MZ fué > 99%. (Smith y Penrose).

El haplotipo cde se encontró en 6/16 haplotipos en los MZ y 2/24 en los DZ; el test X<sup>2</sup> sin embargo no demostró significancia estadística. Con la excepción del sistema MN, los restantes sistemas sanguíneos no mostraron una incidencia diferente de la población chilena. En los DZ la edad materna fué mayor y el antecedente de gemelos en la familia provenía solo por línea materna; en los MZ provenía a través de ambas líneas parentales, hechos estadísticamente significativos. Estos resultados, por lo reducido de la muestra, no son concluyentes.

CANALES EXCITATORIOS E INHIBITORIOS, ACTIVADOS POR EL L-GLUTAMATO EN MUSCULOS DE LA LARVA DE *Drosophila melanogaster*. (Excitatory and inhibitory channels activated by L-Glu in *Drosophila* larval muscle). Delgado, R. y Labarca, P. Centro de Estudios Científicos de Santiago y Laboratorio de Fisiología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

A pesar de su enorme potencial, debido a la existencia de mutantes que exhiben deficiencias en sus propiedades de excitabilidad, se han realizado escasos estudios a nivel de canales únicos en músculos de *Drosophila melanogaster*. En particular, no se han investigado las propiedades de canales activados por el L-Glu, que ha sido postulado como el transmisor excitatorio en la juntura neuromuscular de *Drosophila*. Con tal propósito, se establecieron las condiciones para obtener sellos de alta resistencia (GΩ) que permiten resolver corrientes de canales únicos usando la técnica de "patch-clamp" y se obtuvieron registros de canales excitatorios activados por L-Glu. Se registraron además canales inhibitorios selectivos a Cl<sup>-</sup>, activados por L-Glu y GABA confirmando resultados previos que indicaban su existencia y la presencia de sinapsis inhibitorias en músculo de *Drosophila*. Se identificó también un canal de K<sup>+</sup> activado por Ca<sup>2+</sup>, cuya probabilidad de apertura depende del potencial. El canal de K<sup>+</sup> activado por Ca<sup>2+</sup> es bloqueado por TEA y Na<sup>+</sup>.

Financiado por Grant NIH HL 35981, Tinker Foundation INC. y Proyecto Fondecyt 1356-86

DETECCION DE UNA ACTIVIDAD ATPASICA EN PEROXISOMAS DE HIGADO DE RATA. (Detection of an ATPase activity in rat liver Peroxisomes). del Valle, R., Necochea, C., Soto, U. y Leighton, F. Departamento de Biología Celular, P. U. Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile.

La beta oxidación de ácidos grasos en células hepáticas ocurre en dos diferentes organelos subcelulares, mitocondrias y peroxisomas; no obstante, la especificidad del largo de cadena y las enzimas involucradas en la degradación de éstos son diferentes. Hemos descrito (Peroxisomes in Biology and Medicine, Fahimi & Sies eds., 177-188, Springer-Verlag, Heidelberg, 1987) que la beta oxidación de ácidos grasos en peroxisomas, es proporcional a la concentración celular de ATP. Esto nos llevó a estudiar la posible presencia de una actividad ATPásica asociada a peroxisomas. Esta actividad se investigó midiendo el Pi liberado por hidrólisis de ATP, en peroxisomas obtenidos de un fraccionamiento subcelular, seguido de un subfraccionamiento en Nycodenz. Utilizamos hígado de ratas tratadas con Clprofibrato, una droga proliferadora de peroxisomas. Se encontró una actividad ATPásica que comigra con Catalasa (enzima marcador de peroxisomas), en fracciones donde no se detectó enzimas marcadoras de mitocondrias, microsomas, lisosomas y membrana plasmática. Drogas, iones y pH, diferencian esta actividad ATPásica de otras que pudieran estar presentes como contaminantes en estas fracciones peroxisomales. En estudios topológicos con proteasas, se pudo determinar que esta actividad ATPásica estaba asociada a la membrana peroxisomal y que al menos parte de la proteína se encuentra en el lado citoplásmico de los peroxisomas. (Financiado por proyecto DIUC 79/86 y FONDECYT 627/87)

EFFECTO DEL TAUROCOLATO SOBRE LA SECRECION DE LIPOPROTEINAS DE MUY BAJA DENSIDAD (VLDL) EN HEPATOCITOS DE RATA. (Effect of taurocholate on the secretion of very low density lipoproteins by rat hepatocytes). Del Pozo, R. y Barth, C. Instituto de Fisiología y Bioquímica, Centro Federal de Investigación Lactea, Kiel (RFA) y Depto. de Gastroenterología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: F. Nervi).

Observaciones clínicas han sugerido la existencia de una interdependencia regulatoria entre los metabolismos de ácidos biliares y triglicéridos (TG). Se ha indicado una relación inversa entre el tamaño del "pool" de ácidos biliares y los niveles plasmáticos de TG. Por ello se estudió la influencia del taurocolato sobre la síntesis y secreción de VLDL en preparaciones purificadas de hepatocitos de rata.

Se incubaron los hepatocitos, previamente purificados por medio de un gradiente de Percoll, en un medio conteniendo normalmente ácido oleico 0.75 mM; se determinó la incorporación de (<sup>3</sup>H)-glicerol a TG del medio y asociados a las células.

A una concentración final entre 50-200 uM, el taurocolato inhibió la secreción de VLDL-TG en 70-90% con respecto a los controles. Se obtuvieron resultados similares, cuando se determinó la masa de VLDL-TG secretadas al medio. En presencia de taurocolato 100 uM, tras una incubación de 90 min., la masa de TG y marca de (<sup>3</sup>H) TG celulares disminuyeron en un 18% y 25%, respectivamente. La liberación de (<sup>3</sup>H)-glicerol al medio no fue afectada por el taurocolato.

Estos resultados sugieren que los ácidos biliares interfieren en etapas cruciales durante el proceso de secreción de las partículas de VLDL.

METABOLISMO DIFERENCIAL DE DROGAS INDUCIDO POR LA DIABETES EXPERIMENTAL EN RATAS (Differential metabolism of drugs induced by diabetes in rats). Del Villar, E., Gaule, C., Sánchez, E. y Vega, P. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las reacciones de conjugación catalizadas por la (s) enzima(s) UDP-glucuroniltransferasa(s) (UDPGT) son los procesos más importantes que determinan la inactivación y excreción de numerosos compuestos endógenos y drogas.

En estudios previos hemos demostrado alteraciones que induce la diabetes experimental en el metabolismo microsomal hepático vfas Fase I y II de drogas en ratas Wistar macho. En este trabajo se estudió el efecto de la diabetes aloxánica y la administración de insulina sobre la actividad UDPGT en ratas hembras. Conjuntamente con la de terminación de los parámetros fisiológicos que acompañan el estado patológico, se realizaron estudios cinéticos in vitro de conjugación con UDPGA de estrona, morfina y p-nitrofenol y de activación de la UDPGT por Triton X-100. Los resultados obtenidos demuestran diferencias importantes provocadas por la diabetes y el sexo.

Las actividades UDPGT para estrona y p-NO<sub>2</sub>fenol están aumentadas significativamente en las ratas diabéticas y la administración de insulina permite recuperar los valores normales. La metabolización de morfina permanece inalterada en el estado patológico y la administración de insulina provoca cambios drásticos en los valores de Km y Vmax comparados con las ratas controles y diabéticas. El tratamiento de la suspensión microsomal con Triton X-100 permite activar en forma diferencial la metabolización de los tres sustratos estudiados. Se analizan las implicancias fisiológicas de lo observado y se relacionan con la estimulación androgénica de ciertas enzimas metabolizantes de drogas.

Proyectos: B-2666-8714 DIB. Universidad de Chile y N° 0573 CONICYT.

REGULACION POR HORMONAS TIROIDEAS DE RECEPTORES  $\beta$ -ADRENERGICOS EN GLANDULA MAMARIA DE RATA ( $\beta$ -Adrenergic receptors regulation by thyroid hormones in rat mammary gland) Depix, M.S. y Sapag-Hagar, M. Dpto. Cs. Biológicas, Fac. Cs. de la Salud, Univ. Antofagasta y Dpto. Bioq. y Biol. Molecular, Fac. Cs. Quím. y Farmacéut. Univ. de Chile.

Las membranas de miocardio de animales hipertiroideos, así como los linfocitos de pacientes tratados con triyodotironina ( $T_3$ ), presentan un aumento en el N° de sus receptores  $\beta$ -adrenérgicos (R- $\beta$ A).

La  $T_3$  interviene en el desarrollo y función de la glándula mamaria por lo que estudiamos en membranas celulares mamarias de ratas en lactancia, hipotiroideas (por dieta deficiente en yodo y tratadas con 6-N-propil-2-tio uracilo) e hipertiroideas (inyectadas con  $T_3$ ), el número (n) y funcionalidad de los R- $\beta$ A descritos y caracterizados en nuestro Laboratorio (Biochem. Pharmacol. 34, 2034 6(1985).

Se utilizó  $^3H$ -dihidroalprenolol como radioligando específico y se midió en explantes mamarios el AMP cíclico producido al gatillar el sistema receptor-adenilato ciclasa con diversos efectores (isoproterenol, toxina del cólera, forskolin).

Se encontró "in vivo" en ratas hipotiroideas, una notable disminución en el N° de R- $\beta$ A y contenido de AMP cíclico en relación a los controles (de 122 a 40 fmol/mg proteínas) sin variación en Kd. En las ratas hipertiroideas no varía n pero sí la Kd la cual se duplica, a diferencia de lo que ocurre en corazón.

La capacidad de producción de AMP cíclico, como medida de la funcionalidad de los R- $\beta$ A mamarios, estaba significativamente disminuida en ambos estados tiroideos con los diferentes efectores empleados, especialmente en el hipotiroidismo.

Los resultados evidencian que el estado tiroideo controla la capacidad del tejido mamario para responder a las catecolaminas de origen endocrino o nervioso.

(Proyecto DIB B 2116 - 8733)

AGONISTAS ALFA-ADRENERGICOS EN CONDUCTO DEFERENTE DE RATA. RELACION ENTRE SUS EFECTOS Y LA OCUPACION DE RECEPTORES (Alfa-adrenergic agonists in rat vas deferens. Relationship between their effects and receptor occupancy). Díaz, A. y Martí, M.C., Depto. Cs. Fisiológicas, Fac. Cs. Biol. y Rec. Nat., Universidad de Concepción.

En conductos deferentes de rata "in vitro" fueron estudiados los efectos contráctiles de noradrenalina (NOR), oximetazolina (OXI) y nafazolina (NAF). En cada órgano fueron obtenidas dos curvas dosis efecto (CDE): NOR y NOR previa incubación con dibenamina (DBA) 0.5  $\mu$ M x 10' ó 0.33  $\mu$ M x 15'; NOR y OXY; NOR y NAF. De un gráfico de los recíprocos de las concentraciones equiefectivas de NOR y NOR/DBA fue obtenido el valor de la constante de disociación NOR-receptor alfa adrenérgico (11  $\mu$ M). El valor de estas constantes para OXI y NAF fue obtenido del gráfico del recíproco de las concentraciones equiefectivas de NOR y el agonista en estudio. (Kox= 0.15  $\mu$ M; Knaf= 0.10  $\mu$ M). Del análisis de las CDE de NOR y curva fracción de receptores ocupados vs. dosis fue determinado el porcentaje de receptores de reserva para NOR (25%). Comparando las curvas fracción de receptores ocupados vs. efecto para NOR, OXI y NAF fue calculada la eficacia relativa de estos agonistas (NOR:OXI:NAF= 1:0.008:0.0056). Las CDE generadas por un modelo teórico, que supone una relación no-lineal entre la respuesta y fracción de receptores ocupados, fueron altamente coincidentes con las obtenidas experimentalmente. Se discuten nuestros resultados en relación a los obtenidos por otros autores así como los generados por el modelo teórico.

Proyecto N°20.33.26. Dirección de Investigación.  
Universidad de Concepción.

LA ACTIVACION E INHIBICION DEL TRANSPORTE MEDIADO POR UN SOLO LIGANDO PUEDE EXPLICARSE SIN INVOCAR SITIOS ALOSTERICOS. (The activation and inhibition of mediated transport by a single ligand can be explained without invoking allosteric sites). Davis R.\* y Krupka R.M.\*\*., Depto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile\* y Agriculture Research Center, London, Canada\*\*.

Las propiedades del sistema transportador de colina de eritrocitos se alteran fundamentalmente cuando el medio de incubación es tamponado con 5 mM imidazol en vez de 5 mM fosfato. (1) El sistema no exhibe intercambio acelerado. (2) La adición de colina al medio extracelular no acelera la velocidad de inactivación del transportador por N-etilmaleimida. (3) Dependiendo de las concentraciones relativas de colina e imidazol el transporte puede activarse o inhibirse. La velocidad máxima aumenta más de 5 veces, pero la velocidad a concentraciones moderadas de colina es activada por concentraciones bajas de imidazol e inhibida por concentraciones altas.

Estas observaciones, a primera vista paradójicas, pueden explicarse en base al modelo del transportador clásico, si se supone que el imidazol es un sustrato del sistema que además se encuentra presente en ambos compartimientos (atraviesa la membrana rápidamente por difusión simple). Adición del imidazol al lado cis, inhibe por desplazamiento del sustrato; adición al lado trans, activa por aceleración de la reorientación del sitio de ligamen.

Los resultados tienen significación general ya que los efectos descritos son consecuencia necesaria de la interacción de sustratos competitivos con cualquier transportador móvil en que la reorientación del transportador libre es más lenta que la reorientación del complejo.

Financiado por: Proyectos B-1540 y B-2674, DIB (Universidad de Chile)

CORRELACION ENTRE COMPORTAMIENTO Y RESPUESTA HUMORAL DE LA RATA SOMETIDA A ESTRES DE INMOVILIZACION. (Behavioural and humoral response in the immobility-stressed rat). Díaz de la Vega, J., Valle, L., Kawada, M.E. y Vargas, L. Depto. Biología Celular, Fac. Ciencias Biológicas, Pontif. Universidad Católica de Chile. La rata responde a estímulos físicos y químicos con cambios conductuales y hormonales.

En este trabajo se sometió grupos de ratas a estrés de inmovilización y se analizó el curso temporal de la "actividad emocional" registrando los movimientos de la cola a través de un contador digital conectado a un sensor fotoeléctrico, lo que se comparó con los niveles de glicemia como medida de la respuesta del sistema nervioso autónomo. Los grupos analizados fueron: 1) Ratas estresadas controles 2) Ratas tratadas con diazepam (DZ) 3) Ratas que recibieron propranolol (PROP). Las drogas (o el vehículo en el caso de los controles) fueron administradas por vía intracerebroventricular (i.c.v.) para obtener efecto localizado en vías adyacentes al tálamo e hipotálamo.

Los resultados demuestran que DZ produjo reducción en los movimientos del animal ( $p < 0.05$ ) sin modificar la glicemia, mientras que PROP redujo ambos parámetros ( $p < 0.02$ ). Estos hallazgos indicarían que mediante el empleo de DZ se podría separar la vía de la emoción de los cambios de glicemia provocados por el estrés y a la vez señalan que habría vías adrenérgicas involucradas en la génesis de la emoción dado que el propranolol bloqueó parcialmente la respuesta emocional.

Financiado por: Proyecto 0815/86 de FONDECYT.

EFFECTOS CONDUCTUALES DE APOMORFINA A TRAVÉS DEL CICLO ESTRAL DE LA RATA. (Behavioral effects of apomorphine across the estrous cycle of the rat). Díaz-Veliz, G., Kusanovic, R. y Soto, V. Depto. Preclínicas División Ciencias Médicas Oriente, Fac. de Medicina, U de Chile.

Este trabajo tiene por objeto determinar la influencia de las etapas del ciclo estral sobre los efectos conductuales inducidos por el agonista dopaminérgico apomorfina.

Se utilizaron ratas Sprague-Dawley hembras de aproximadamente 200 gr., estableciéndose 4 grupos experimentales: Diestro, Proestro, Estro y Metaestro, determinándose a través de frotis vaginal. La actividad motora espontánea se registró colocando cada animal en un monitor de actividad durante 30 min. Durante este período se registraron, además, las siguientes conductas: levantadas, sacudidas de cabeza, tiempo de limpieza, olfateo y bostezos. Una semana después los animales fueron sometidos a una sesión de adquisición de respuesta condicionada de evitación activa, en la cual cada animal recibió 50 ensayos. Previo a la realización de ambos ensayos, los animales fueron inyectados con apomorfina (62,5 - 125 - 250 o 500 ug/kg) o salina SC.

Los resultados indican que existen variaciones conductuales a través del ciclo estral de las ratas controles, particularmente en las etapas de estro y metaestro. Además, se evidenció una diferente reactividad frente a apomorfina en algunas de las etapas del ciclo. Se postula que esto se debe a variaciones en la sensibilidad de los receptores dopaminérgicos cerebrales relacionadas con las etapas del ciclo estral.

Proyecto B-2707-8713, DIB, Universidad de Chile.

NOREPINEFRINA EN GLÁNDULA MAMARIA DE RATA. CAMBIOS DURANTE EL CICLO LACTOGENICO \* (Norepinephrine in rat mammary gland. Changes during the lactogenic cycle). Donoso, E. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile (Patrocinio: H. Lara).

La presencia de receptores  $\beta$ -adrenérgicos en glándula mamaria de rata y su variación en el ciclo lactogénico nos ha planteado la posibilidad de que pueda existir una inervación adrenérgica en el tejido mamario. En este trabajo se determinó norepinefrina (NE) y su posible asociación con terminales nerviosos en el tejido mamario. Se estudiaron los contenidos de NE, la captación y liberación del neurotransmisor y el efecto de la desnervación quirúrgica y química sobre el contenido de NE del tejido.

El contenido de NE varía a lo largo del ciclo lactogénico, obteniéndose los mayores valores a los 5-7 días de involución. De la misma forma, la captación y liberación de  $^3\text{H-NE}$  es mayor durante la etapa de involución del tejido, existiendo un requerimiento absoluto de  $\text{Ca}^{++}$  extracelular en el proceso secretor. La determinación de cantidades apreciables de NE en la glándula mamaria de rata, que varían según la condición hormonal del animal, sugieren una vía noradrenérgica en la glándula. Apoya estos resultados el hallazgo de que la desnervación quirúrgica disminuye parcialmente la NE del tejido y que la desnervación química con 6-hidroxidopamina (6-OHDA) la disminuye a valores mínimos.

La existencia de un mayor contenido de NE en la etapa de involución podría dar evidencias para la participación de la inervación noradrenérgica en la función de la glándula, posiblemente asociada a la activación de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos.

\* Financiado por proyectos DIB B2116-8733 y B2750-8712.

ADVECCION DEL FITOPLANKTON POR UNA CORRIENTE SUPERFICIAL (Advection of phytoplankton by a superficial current). Domínguez, P. y Casanova D. Sección Ecología, Universidad Católica de Valparaíso.

Se postula que la distribución espacial del fitoplankton depende de la velocidad y dirección de la corriente de agua y del peso de los individuos.

Los objetivos son: 1.- Inferir el patrón de corrientes superficiales (estrato de 50 cm) inducido por los vientos del Sur. 2.- Estimar el peso de las especies abundantes y clasificarlas de acuerdo a éste y 3.- Estimar el patrón de distribución de las algas en función de la corriente.

El trabajo se realizó en la Laguna Grande de San Pedro (Concepción, Chile) los días 15 y 16 de enero de 1985. La velocidad y dirección de la corriente se estimó con un derivador; los pesos relativos de las especies por sedimentación en laboratorio y la distribución se estimó sobre tres transectas orientadas en el sentido de la corriente.

Los resultados obtenidos permiten establecer:

- 1.- Existió una corriente con una velocidad equivalente al 1.6% de la velocidad del viento que la induce.
- 2.- Se detectaron tres categorías de especies: livianas, intermedias y pesadas
- 3.- La distribución de algunas algas consideradas respondió más a la turbulencia del agua que a un transporte horizontal de ellas por la corriente. Este efecto se manifestó tanto a nivel de las transectas (microescala) como a nivel de la escala del lago (macroescala)

INTERCAMBIO CALCIO/CALCIO EN TUBULO TRANSVERSAL DE MUSCULO ESQUELETICO DE ANFIBIO. (Calcium/calcium exchange in transverse tubule membranes from frog skeletal muscle) Donoso, P. Dptos. Fisiología y Biofísica y Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El sistema de intercambio Na/Ca, que existe en la membrana plasmática de la mayoría de las células excitables, cataliza, en ausencia de sodio, intercambio Ca/Ca, proceso que es electroneutro y activado por cationes monovalentes como potasio o litio.

En vesículas de túbulo transversal (TT) de músculo esquelético de anfibio, que poseen actividad de intercambio Na/Ca, encontramos que vesículas pre-cargadas con colina, potasio o litio en lugar de sodio, presentan una entrada de calcio que oscila entre el 30 y el 50% de la observada en sodio. La velocidad inicial de entrada de calcio a estas vesículas no es afectada por valinomicina en presencia de gradiente de potasio ni por variaciones en el potencial de membrana. Es activada por potasio interno y presenta cinética de saturación con respecto a la concentración de calcio libre extravesicular con una  $K_{0.5}$  aparente de 6  $\mu\text{M}$ , semejante a la  $K_{0.5}$  ap. para Ca libre del sistema de intercambio Na/Ca en TT (3  $\mu\text{M}$ ). Por otra parte, calcio extravesicular induce la liberación de calcio de vesículas cargadas con Ca.

Los resultados sugieren que la entrada de calcio a vesículas de TT que contienen colina, potasio o litio, se realiza por un proceso de intercambio Ca/Ca con calcio preexistente en el interior de las vesículas. Financiado por NIH GM35981, MDA, FONDECYT 134, 1340, DIB 2149.

**TRANSFERENCIA GENÉTICA DESDE *E. coli* Y *P. putida* A ESPECIES DE *Thiobacillus* MEDIANTE CONJUGACION Y SU POSIBLE APLICACION EN BIOLIXIVIACION.** (Genetic transfer from *E. coli* and *P. putida* to *Thiobacilli* species by conjugation and its putative application on bioleaching). Droguett, G., Hevia, E. y Venegas, A. Laboratorio de Bioquímica, Grupo de DNA Recombinante y Biotecnología. Universidad Católica Casilla 114-D, Santiago.

Con el fin de optimizar los procesos bioextractivos de minerales mediante lixiviación bacteriana se ha propuesto manipular genéticamente las especies involucradas en el proceso. Esto se puede lograr optimizando vías metabólicas y mejorando la supervivencia bacteriana frente a compuestos tóxicos. El acidófilo más representativo del proceso es *Thiobacillus ferrooxidans*, el cual, a la fecha no ha podido ser manipulado genéticamente. Esta comunicación resume experimentos de conjugación con *Thiobacillus intermedius*, bacterias del mismo hábitat que crece entre pH 4 y 8.

La conjugación se realizó en medio sólido a 30°C por 20 hrs usando como dadores *E. coli* cepas C600, RG192, y *P. putida* KT2440 y como receptora *T. intermedius*. Los plásmidos transferidos fueron de amplio rango de huéspedes RP4 y sus derivados pDT566 y pDT387, que confieren resistencia a tetraciclina. El marcador genético para la selección fue tetraciclina. La demostración de transferencia genética se hizo por expresión fenotípica, detección de plásmidos por hibridación Southern y retroconjugación hacia *P. putida* KT2440. La frecuencia de transferencia fue alta ( $1 \times 10^{-3}$  a  $4 \times 10^{-3}$ ). Este es el primer paso hacia manipulación de otras especies de *Thiobacillus*.

Se discute las proyecciones de la manipulación genética en especies del mismo hábitat y que permitan mejorar la biolixiviación mediante el uso de mezclas bacterianas.

Financiado por FNUD/ONUDI proyecto CHI 85/002 y beca CORFO 87 a G.D.

**DISMINUCION BIFASICA DEL POTENCIAL ENDOCOCLEAR DE LA RATA POR EFECTO DE LA IONTOFORESIS DE KANAMICINA.** (Biphasic decrease of endocochlear potential of the rat by the effect of iontophoresis of kanamycin). Echeverría, E., González, L., Fischer, M. Depto. Cs. Básicas, Fac. Med., Div. Oriente, Univ. de Chile. (Patrocinio: P.Nacho).

El mecanismo de acción de los aminoglicósidos (AGL) se ha postulado que sería en dos fases: inicialmente el AGL desplaza el  $Ca^{++}$  de membrana, siendo revertido por  $Ca^{++}$  en forma competitiva y una segunda fase de interacción con fosfatidilinositol bifosfato no competitiva con  $Ca^{++}$  que llevaría a un daño irreversible de membrana (HEAR RES 8,179,82). El objetivo del presente trabajo es mostrar que los resultados obtenidos en intoxicación aguda son compatibles con este modelo, y presentar evidencias de modificaciones de la acción tóxica por iontoforesis de  $Ca^{++}$  en escala media.

Ratas Sprague Dawley fueron anestesiadas, traqueotomizadas y mantenidas a 37°C. Se registró el umbral del potencial de acción (PA) detectado por un electrodo en ventana redonda en respuesta a tonos puros. El potencial endococlear (PE) era registrado por una micropipeta de iontoforesis con su punta en escala media de la cóclea a través de la estría vascular. En comunicación anterior (ARCH BIOL MED EXP 17, R134,84) se describió el efecto de la iontoforesis de kanamicina en escala media de la cóclea de la rata sobre el PE. Utilizando corrientes de 40 mA durante 10 minutos, se mostró una caída inicialmente lenta hasta los 40-50 min desde el inicio de la iontoforesis y posteriormente una disminución rápida hasta incluso un 50% del valor inicial. Se mostrará que estas dos fases de supresión del PE, coinciden temporalmente con la secuencia descrita para la supresión del potencial microfónico coclear (PNC) cuando el AGL se administra por perfusión perilinfática. Llamo la atención que la administración de AGL por la parte basal de la célula NO modifica el PE (perfusión perilinfática), mientras que la administración en la parte apical (iontoforesis en escala media) sí lo suprime. Además se presentarán resultados obtenidos al iontoforizar  $Ca^{++}$  en escala media en cócleas intoxicadas por el AGL.

En conclusión, la acción bifásica de los AGL en la cóclea es evidenciable al registrar el PE y hay diferencias entre la administración apical y basal del AGL sobre dicho potencial. Hasta la fecha, estos resultados son las únicas descripciones de alteración del PE por efecto de los AGL. (Proyecto B21818733, Dpto. Desarrollo Investigación, Universidad de Chile).

**MADURACION GONADAL Y FECUNDACION IN VITRO EN EL OSTION DEL NORTE *Argopecten purpuratus*.** (Gonadal maturation and in vitro fertilization in the scallop, *Argopecten purpuratus*). Dupré, E., y Corgollón, P. Universidad del Norte Sede Coquimbo y Universidad de Valparaíso.

Los reproductores que serán acondicionados para inducir su desove se eligen después de una evaluación visual de su gónada. Sin embargo, sólo en el 50% de estos se logra inducir desove. Una posible explicación para este hecho es la no correspondencia del estado de maduración meiótica necesario para el desove y los parámetros visuales utilizados. Además se ha observado que concentraciones espermáticas mayores que 20 espermios/oocito genera poliespermia y así una disminución del rendimiento de los cultivos masivos. Es por esto que hemos iniciado estudios tendientes a determinar los factores óptimos para la inducción de maduración gonadal, desove, fecundación y desarrollo temprano. El presente estudio realiza un análisis cronológico ultraestructural del proceso reproductivo desde la maduración hasta el desarrollo embrionario temprano.

Gónadas disectadas de individuos adultos en diferentes estados de maduración desde el día del desove (DD), se fijaron en glutaraldehído al 4% en agua de mar y preparados para MET y MEB. La gónada está constituida por folículos cuyas paredes están formadas por un epitelio germinativo y una lámina basal delgada. El tejido interfolicular es una matriz amorfa conteniendo elementos fibrosos y células indiferenciadas. Desde el día 01 DD y hasta el día 19 el oocito aumenta de diámetro. Aparecen microvellosidades (MV) y una cubierta homogénea y poco densa en su superficie libre. Células nutricias lo rodean en su base al alcanzar los 35  $\mu$ m. A los 19 días alcanza diámetro de 55  $\mu$ m y contactan entre ellos alterándose su forma esférica. En este estado están aptos para el desove. Los oocitos en SW recuperan la forma esférica, espermios adquieren movimientos y se adosan a la cubierta agrietada de este, contactando su cabeza con las MV que salen de las grietas. Dos hrs. después sale el 2° polocito.

**RESISTENCIA AL FRIO Y CAMBIOS QUIMICOS Y ANATOMICOS EN ESPECIES DE MYRTACEAE DEL SUR DE CHILE.** (Cold hardiness and anatomical and chemical changes in Myrtaceae of South Chile). Eisele, G., Romero, M., Fernández, J., Alberdi, M. Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Existen evidencias que la máxima resistencia al frío de algunos vegetales se relaciona con la anatomía foliar, como también con un incremento en metabolitos crioprotectores. Se investiga el curso estacional de la resistencia a las bajas temperaturas ( $T_{50}$  en °C), en tallos y hojas de mirtáceas de la región valdiviana, los contenidos en carbohidratos solubles y almidón, lípidos y la anatomía foliar.

En primavera y verano los órganos de las especies fueron más sensibles que en invierno, lo que coincidió con un ascenso y descenso respectivamente, de las temperaturas mínimas del hábitat. Los niveles de carbohidratos solubles y lípidos fueron mayores en invierno y menores en verano, mientras que el contenido de almidón fue inverso. El máximo endurecimiento invernal de las hojas se correlacionó significativamente sólo con el grosor del parénquima en empalizada ( $r=0.746$ ) y con el número de estomas ( $r=-0.639$ ). La especie más resistente fue *Ugni molinae* ( $T_{50}=-7.1^{\circ}C$ ) y las más sensible *Luma spiculata* y *Amomyrtus luma* ( $T_{50}=-5.0^{\circ}C$ ). Los tallos fueron más resistentes que las hojas.

Los resultados permiten concluir que, la mayor resistencia se presentó en las especies que ocupan hábitats térmica y edáficamente más desfavorables, cuyas hojas poseen mayor densidad estomática y menor grosor del parénquima en empalizada. Además, los antecedentes aportados sustentan la participación de carbohidratos y lípidos en el incremento de la resistencia al frío.

Proyecto DID-UACH S-86-30 y FONDECYT 1229/86

IDENTIFICACION Y DETERMINACION DEL ESTADO DE AGREGACION MOLECULAR DE LA ALDEHIDO-NAD-OXIDOREDUCTASA EN SNC DE RATA. ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE RATA NORMAL Y "A.G.RATS". (Aldehyde-NAD-oxidoreductase (EC 1.2.1.3) in rat's CNS. Identification and determination of molecular aggregation of ALDH. A comparative study between Normal and "A.G. rats"). Eraña, E. & Grez, P. Universidad de Chile - Facultad de Medicina - Instituto de Medicina Experimental - Santiago 7 - Chile. El etanol es metabolizado en el hígado por dos enzimas NAD-dependientes: la ADH (EC 1.1.1.1) oxida el etanol (EtOH) a acetaldehído (ALCHO), el cual es transformado a acetato por la aldehído dehidrogenasa (ALDH EC 1.2.1.3). Numerosos trabajos realizados en hígado de diferentes mamíferos, han demostrado la presencia de varias isoenzimas de la ALDH. Sin embargo son escasos los autores que han comunicado la presencia de ALDH en SNC. En trabajos previos realizados en nuestro Instituto se ha detectado la presencia de ALDH en las diferentes áreas del SNC de rata. De acuerdo a estos primeros resultados, nos interesó conocer la distribución precisa de esta enzima y su estado de agregación molecular, en cada una de las áreas del SNC a estudiar, en los dos grupos experimentales a tratar tanto en ♂ como en ♀. Ratas adultas albino Wistar ♂ y ♀ por separado. Las "A.G./12" son bebedoras exclusivas de una solución de EtOH al 12% v/v (86 generaciones) y control normal. Se tomaron 4 áreas del SNC: corteza cerebral, hipotálamo, cerebelo y mesencéfalo. La electroforesis se hizo en un sobrenadante de 20.000 x g obtenido de cada una de las áreas ya mencionadas. La actividad enzimática se detectó en gels de poliacrilamida de diferentes concentraciones, según el método de Mc Robbie et al. (1985). Se encontró actividad enzimática para la aldehído dehidrogenasa en las 4 regiones estudiadas, del SNC de rata, y en ambos sexos. El estado de agregación molecular no presenta diferencia significativa entre normal y "A.G. rats"; tampoco entre ♂ y ♀.

CLONAMIENTO DEL cDNA, EXPRESION Y SECUENCIACION DEL CODIGO DE LA PROTEINA DE LA CAPSULA DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL POROTO DE SOYA. (cDNA cloning, expression and sequencing of the soybean mosaic virus coat protein coding sequence). Eggenberger, A. L.; Stark, D. M. and Beachy, R. N. Biol. Dep. Washington, St. Louis, Mo. 63130

cDNA complementario al RNA del virus del mosaico del poroto de Soya (SMV), un miembro del grupo potyvirus, se sintetizó y clonó en el vector de expresión pEMBL 18+. Uno de estos, designado PSM 2-21, hizo una proteína de fusión en *E. coli* que reaccionó con los anticuerpos sintetizados contra la proteína de la cápsula del virus. Este cDNA fué secuenciado, encontrándose que incluye la secuencia completa de la proteína de la cápsula. El N-terminal de la proteína está aparentemente bloqueado. Tratamiento triptico del virus deja un centro resistente de movilidad relativa de 28,000, cuyo N-terminal está siendo secuenciado. La secuencia codificante de esta proteína está siendo modificada para la introducción del gen en plantas con el objeto de realizar estudios de resistencia por ingeniería genética.

TERMINACIONES NERVIOSAS EN LOS LIGAMENTOS ARTICULARES (ESTUDIO EXPERIMENTAL) (Nerve endings in the articular ligaments, Experimental study) Elgueta, D., Escorza, E. y Oberti, C. Dep. de Morfología Exp. Fac. Cs. Med. Norte U. de Chile.

Cápsulas y ligamentos articulares poseen receptores nerviosos que por sus variaciones morfológicas y grosor axonal posiblemente originen reflejos posturales propioceptivos y den lugar a mecanismos actividad refleja.

Los trabajos publicados ofrecen discrepancias en sus resultados e interpretaciones; con el fin de obtener observaciones personales y propia experiencia de la estructura de los mecanorreceptores articulares aborramos su estudio con el método de impregnación aurica, eligiendo como material experimental los ligamentos cruzados de la rodilla de gato. Observamos en los septos conectivos terminaciones libres y corpúsculos nerviosos encapsulados, como asimismo formaciones fusales espiraladas en torno a haces de fibras ligamentarias, que semejan estructuras de husos neuromusculares.

La población de terminaciones nerviosas articulares sería activada por los desplazamientos que el fémur imprime a los meniscos, lo que generaría distintos grados de tensiones ligamentarias; tal actividad articular sería informada a la vía propioceptiva por las señales eléctricas de los mecanorreceptores.

Los hallazgos deben ser ampliados con el uso de otras técnicas de impregnación metálica y tinción vital.

MODIFICACIONES PRODUCIDAS POR HONGOS DE PUDRICION PARDAS SOBRE MODELOS TIPO LIGNINA Y POSIBLES MECANISMOS INVOLUCRADOS. (Modifications produced in Lignin-Related Compounds by Brown-Rot Fungi and probable mechanisms involved). Espinoza, E., Rojas, E., Jara, S. y Agosin, E. Laboratorio de Biotecnología, INTA, Universidad de Chile. (Patrocinio: A. Valenzuela).

Los tejidos lignocelulósicos están compuestos principalmente por polímeros estructurales de celulosa, lignina y hemicelulosas. De estos componentes, la celulosa corresponde a un 35-45% del peso seco, las hemicelulosas a un 20-40% y la lignina a un 15-35%.

Los hongos de pudrición parda, que crecen predominantemente en maderas blandas, han sido escasamente estudiados a pesar de su capacidad única de evadir la barrera de lignina durante la degradación de la madera, lo que los hace candidatos potenciales para la bioconversión directa de los polisacáridos de la madera a azúcares fermentables.

Con el objeto de dilucidar el mecanismo bioquímico implicado en este proceso, determinar las condiciones óptimas del sistema degradativo del hongo (*Gloeophyllum trabeum*) y sus componentes, se evaluó el efecto de éste en fermentación sólida sobre aserrín de pino, observándose biodegradación de celulosa y hemicelulosas (siendo mayor en esta última), principalmente. El crecimiento de la cepa en medio líquido estático, restringido en nitrógeno, presentó una disminución del pH en el tiempo debido a la producción de ácidos orgánicos los cuales fueron separados e identificados por HPLC.

Los mecanismos implicados en el proceso biodegradativo suponen la participación de radicales libres. Tomando en cuenta esta premisa, se realizaron experiencias tendientes a detectar radicales libres derivados del oxígeno producidos por el hongo, y paralelamente se evaluó la acción biodegradativa de sistemas generadores de estos radicales.

Para aclarar el tipo de modificaciones sobre el polímero lignina se utilizaron modelos fenólicos monoarómicos y diarómicos con enlaces característicos del polímero, e.g. B-1 y B-0-4. Los cambios producidos en estos modelos fueron estudiados por TLC y HPLC e identificados parcialmente. El hongo libera compuestos metabólicos de tipo fenólico al medio los cuales absorben en el mismo rango UV que los modelos, lo que dificultó la caracterización de éstos. La relevancia de estos resultados en la sacarificación directa de sustratos lignificados será discutida en la presentación.

Proyecto: Sacarificación de aserrín de Pino por Hongos de Pudrición Parda. Financiado por: IFS (Suecia).

**DIFERENCIAS SEXUALES EN LA REACTIVIDAD ELECTROCORTICAL AUDITIVA** (Gender differences in auditory electrocortical reactivity) Echebarrigaray, R.; Camposano, S.; Lolas, F. Unidad de Psicofisiología, Depto. de Fisiología y Biofísica, Fac. de Medicina, Universidad de Chile.

La pendiente intensidad/amplitud para complejos tardíos del potencial evocado auditivo (PEA) es mayor en la derivación central izquierda (C3) en hombres jóvenes normales. Los complejos P1N1, N1P2 y P2N2 muestran independencia funcional. Este trabajo replica estos datos y explora diferencias entre sexos. 10 hombres ( $x=21,8$ ,  $ds=2,6$  años) y 10 mujeres ( $x=21,4$ ,  $ds=3,4$  años) sanos fueron estimulados binauralmente, en situación de atención pasiva mediante estimulador Grass S88 con clicks (duración 1 ms, 1/seg) a intensidades de 63-74-87 y 97 dB, presentados aleatoriamente. Se registró derivaciones Cz, C3 y O4 (sistema 10-20) referidas a mastoides bilateral y electrooculograma derecho. Un computador XT con conversor AD promedio 100 respuestas electrocorticales para cada intensidad. Se midió latencia y amplitud "peak to peak" de los complejos P1N1, N1P2 y P2N2 y se calculó pendiente intensidad/amplitud mediante regresión lineal. En el total de la muestra, la amplitud de los complejos en todas las intensidades es máxima en Cz y mayor en O4 que en C3. La pendiente en Cz es positiva para todos los complejos y siempre es mayor en C3 que en O4.

Tanto hombres como mujeres presentan mayores amplitudes en O4; las mujeres presentan mayores pendientes en C3 para P1N1 y en O4 para N1P2 y P2N2. En hombres se observa lo inverso. En vertex (Cz), las mujeres muestran amplitud mayor en N1P2 y P2N2 a intensidades mínima y máxima (Mann - Whitney); los valores son similares a intensidades intermedias. Los hombres presentan mayor pendiente intensidad/amplitud en N1P2 y menor en P2N2. La independencia estadística de los complejos en el total de la muestra, hombres y mujeres, sugiere independencia funcional y relación con etapas diferentes del procesamiento de la información sensorial. La asimetría hemisférica de pendientes en el total de la muestra replica hallazgos anteriores (HI > HD). Los datos también sugieren diferencias en la reactividad sensorial de hombres y mujeres, bajo condiciones de atención pasiva.

Proyecto financiado por FONDECYT y Universidad de Chile.

**CONTRIBUCION DE LAS AFERENCIAS CAROTIDEOS Y AORTICAS AL COMANDO QUIMIOSENSORIAL DE LA VENTILACION.** (Contribution of carotid and aortic afferences to the ventilatory chemosensory drive). Eugenin, J., Larrain, C. y Zapata, P. Laboratorio de Neurobiología, Universidad Católica de Chile.

La contribución de los quimiorreceptores arteriales periféricos al comando (control tónico) de la ventilación, como su dependencia del nivel de actividad de estas aferencias, se estudió en gatos adultos anestesiados con pentobarbitona y que respiraban espontáneamente.

En normoxia normocápnica, el bloqueo anestésico de los nervios "buffer" no evidenció contribución de los nervios aórticos al comando ventilatorio, mientras ambos nervios carotídeos comandaban hasta el 46% del volumen corriente y hasta el 26% de la frecuencia respiratoria. Sólo los cambios del volumen corriente dieron lugar a cambios de la PETCO<sub>2</sub>.

Los efectos ventilatorios inmediatos producidos por el bloqueo anestésico de cada nervio buffer estaban directamente correlacionados con su contribución a la hiperventilación refleja evocada por hipoxia citotóxica (administración i.v. de dosis crecientes de NaCN).

La contribución de cada nervio carotídeo al comando ventilatorio y a los quimiorreflejos evocados por hipoxia citotóxica dependió de la actividad aferente de su homólogo contralateral (interacción hipoaditiva).

Los regímenes estacionarios de volumen corriente y frecuencia respiratoria después del bloqueo de uno o ambos nervios carotídeos no diferían significativamente de los controles.

Se propone que el comando de la ventilación ejercido por el sistema de quimiorreceptores arteriales podría describirse como una función moduladora del control químico de la ventilación, evidenciada por los cambios de las respuestas ventilatorias a la hipoxia.

Financiamiento: DIUC, FONDECYT y Fund. Gildemeister.

**REGULACION DE LAS FORMAS ASIMETRICAS DE LA ACETILCOLINESTERASA MUSCULAR** (Regulation of the asymmetric forms of muscle Acetylcholinesterase). Fadic, R. e Inestrosa, N.C. Unidad de Neurobiología Molecular, Depto. Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile.

La enzima acetilcolinesterasa (AChE, EC 3.1.1.7) juega un papel importante en la transmisión colinérgica. Se le encuentra en varias formas moleculares, de las cuales las asimétricas, formadas por 3 tetrámeros de subunidades catalíticas y un tallo de estructura colagénica parecen ser reguladas directamente por el nervio.

Existen clases asimétricas que son liberadas por NaCl 1M (Clases I) y otras que son solubilizadas por NaCl 1M más EDTA 2 mM (Clase II). La evidencia actual sugiere que sólo las primeras son reguladas por el nervio.

En este trabajo se realizaron múltiples modelos experimentales para estudiar este problema (a) Degeneración y Regeneración de músculo soleo, (b) Denervación músculo diafragma y extensor digitorum longus. En cada situación se estudiaron los niveles de AChE, como también las formas moleculares en gradientes de Sacarosa.

Nuestros resultados permiten concluir que la Clase II es también regulada por el nervio y en particular es inducida por la sección del nervio contralateral al músculo donde se le examina.

Financiado por DIUC 77/86 y FONDECYT 706/87.

**GLICOPROTEINAS EN LA INTERACCION DEL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREATICA INFECCIOSA-CHSE-214.** (Glycoproteins in the IPNV-CHSE-214 interaction). Fariás, G., Capdeville, A., Leiva, H., Estay, A., Navarrete, E. y Kuznar J. Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

Como modelo para analizar los mecanismos de penetración viral estamos empleando el virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPN). Este virus no posee membrana externa y tiene solamente 3 proteínas estructurales.

Con objeto de determinar la participación de glicoproteínas en la interacción entre virus IPN y células CHSE hemos analizado el efecto de la Concanavalina A sobre la infección. Si se incuban las células con Concanavalina A, éstas se hacen refractarias a la infección por virus IPN. Sin embargo, si se incubaba el virus con la lectina, antes de infectar, no se observa efecto alguno sobre la infectividad.

Por otro lado, al menos una de las proteínas estructurales del virión liga Concanavalina A en geles de poli acrilamida. Si el virus intacto se marca covalentemente con isotiocianato de fluoresceína, la única proteína fluorescente que se detecta en los geles parece ser la glicosilada.

Estos resultados sugieren, en principio, que la célula huésped posee glicoproteínas necesarias para la fijación del virus a ella. Asimismo, el virus poseería una glicoproteína que está situada en la superficie del virión y cuya región carbohidrato no interviene en la unión a la célula.

Este trabajo es financiado por el Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Consejo Superior de Ciencias (Proyecto N° 1505). y por la Dirección de Investigación Científica y Tecnológica de la Universidad de Valparaíso (Proyecto N° U.V. 4/86).

EFFECTO DE LA TESTOSTERONA (T) EN CALIBRES Y MICROTUBULOS DE AXONES DE NERVIOS HIPOGLOSOS. (Effect of testosterone upon caliber and microtubular content of hypoglossal nerve axons). Faúndez, V. y Alvarez, J. Laboratorio de Neurocitología, Fac. Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile.

La T, hormona anabólica, es concentrada en los núcleos motores de nervios craneanos. El nervio hipogloso (XIIp) regenera más rápido en ratas machos normales que en castrados.

En hembras la T debería provocar un incremento en el calibre y contenido microtubular (MT) de axones del XIIp.

Ratas hembras de 200g se inyectaron i.m. por 80 días con propionato de T y las controles con aceite. Los XIIp se procesaron para microscopía electrónica. En fotografías se contó MT y se midió el área de axones mielínicos (AxM).

Las áreas de los AxM experimentales aumentó en un 20% respecto de los controles independientemente del área original. La densidad MT en AxM de 3 um de diámetro disminuyó en un 20% de  $37 \pm 2.5$  a  $29.8 \pm 1.0$  MT/um<sup>2</sup> (x+SEM). La densidad control es un 65% mayor que la reportada en AxM de 3 um de diámetro del sural (J. Comp. Neurol (86) 250: 65).

La T provoca un aumento del volumen axonal. La densidad Mt disminuye en igual proporción que el aumento del área. Concluimos que la T aumenta el calibre del AxM del XIIp sin afectar su número de MT. Proponemos que los andrógenos a) regulan el calibre axonal y b) no perturban el número de MT.

DESARROLLO DE 2/4 DE EMBRION DE RATON (Development of 2/4 mouse embryo) Fernández, M.S. & Izquierdo, L. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En huevos de ratón cultivados con litio se observa un retardo de la segmentación, en función de la concentración del ión, sin retardo de la blastulación. Así, se desarrollan blastocistos y una cierta proporción de vesículas trofoblásticas (VT) en función también de la concentración de litio. La falta de masa celular interna (MCI) en las VT se interpretó como un efecto inhibitorio del litio sobre un supuesto gradiente centro-periferia o alternativamente, como un efecto de la disminución del número de células, de acuerdo con el modelo adentro-afuera. En este trabajo se intenta dirimir entre dichas alternativas disminuyendo el número de células por división del huevo.

El desarrollo de estados de dos células en ausencia de zona pelúcida causa un ordenamiento en tres formas distintas: lineal (20%), semilineal (30%), semiesférica (49%). Iguales formas y porcentajes semejantes se observan después que huevos de 4 células se subdividen en dos huevos de 2 células. La subdivisión no causa retardo de la compactación ni de la blastulación y esta ocurre cuando los huevos tienen aproximadamente 10 células, en tanto que los controles (huevos enteros sin zona pelúcida) blastulan con aproximadamente 25 células. A pesar del número disminuido de células de los huevos subdivididos no se observa blastocistos que carezcan de MCI. El mismo número de células, al momento de la blastulación se obtiene en cultivos con LiCl 20 mM y en estas circunstancias se forma 43% de VT.

Por lo tanto, se concluye que el efecto del litio no se explica simplemente por el escaso número de células y probablemente se trata de una interferencia con algún proceso morfogénico. Financiamiento: DIB, Fondecyt.

ESPECIFICIDAD DE UNA PROTEASA ALTAMENTE ASOCIADA DE CUCURBITA FICIFOLIA (Specificity of a highly associated protease from Cucurbita ficifolia). Fedele, F., Salinas, D., Curotto, E. y González, G. Laboratorio de Bioquímica, Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso.

En las últimas etapas de la purificación de la proteasa de la pulpa de la alcayota (Cucurbita ficifolia) se encontraron evidencias de la existencia de estados asociados de la enzima. La proteasa fue purificada por fraccionamiento con sulfato de amonio, filtración por Sephacryl S-300 y cromatografía de intercambio iónico por CM-Sephadex. Diferentes estados de agregación fueron detectados por cromatografía líquida de alta presión utilizando una columna Protein-Pak 300 de rango de resolución entre 10 y 400 kdaltons. La curva de calibrado con proteínas de peso molecular conocido mostró un equilibrio entre tres estados de agregación: 10, 60 y 120 kdaltons aproximadamente. Electroforesis en poliacrilamida en condiciones nativas y en presencia de SDS mostró la presencia solo del componente de 60 kdaltons. La composición aminoácídica presenta valores compatibles con los estados de agregación propuestos. La especificidad de la enzima se determinó con sustratos del tipo CBZ-AA-p-nitrofenil, que al hidrolizarse liberan p-nitrofenol detectable a 405 nm. El grado de especificidad fue medido en base al cociente kcat/km, encontrándose los valores más altos para glicina y alanina, lo que sugiere una proteasa del tipo elastasa.

Consumo de oxígeno (QO<sub>2</sub>) microsomal y quimioluminiscencia (QL) hepáticos de ratas tratadas con tri-iodotironina (T<sub>3</sub>). (Hepatic microsomal oxygen consumption and chemiluminescence in rats treated with tri-iodothyronine). Fernández, V. y Kipreos, K. Unidad de Bioquímica, Div. Cs. Médicas Occidente, Facultad de Medicina, U. de Chile. La administración de T<sub>3</sub> a ratas durante 24 y 48 hr, aumenta la actividad de procesos oxidativos microsomales y disminuye el contenido de citocromo P-450 (C-P450) a las 48 hr de tratamiento. Para poder relacionar este efecto de T<sub>3</sub> con la respiración microsomal y la lipoperoxidación (LP) hepáticos, se determinó el QO<sub>2</sub> microsomal y la QL espontánea (QLE) e inducida (QLI) (índices de LP), en ratas tratadas 24 y 48 hr con dosis diarias de T<sub>3</sub> (0,1 mg/Kg de peso). Sólo el grupo tratado 48 hr mostró un aumento del QO<sub>2</sub> inducido por NADPH, lo que concordaría con la mayor actividad oxidativa microsomal observada en este período, y una disminución del QO<sub>2</sub> inducido por el pro-oxidante terbutil hidropéroxido (t-BOOH), lo que concordaría con la disminución del contenido de C-P450 observada en este período. En ambas situaciones se observa un efecto inhibitorio sobre el QO<sub>2</sub> al pre-incubar con el antioxidante oleanol-3, lo que representa la respiración microsomal sensible a antioxidantes (RMSA). La QLE de homogenizados hepáticos aumenta significativamente a las 24 y 48 hr de tratamiento y la QLI por NADPH sólo a las 48 hr, encontrándose una correlación lineal entre el QO<sub>2</sub> y la QL en presencia de NADPH. La QLI por NADPH y t-BOOH disminuye respecto a animales no tratados con T<sub>3</sub>, observándose una correlación lineal entre QO<sub>2</sub> y QL en presencia de t-BOOH. Luego, se comprueba el desarrollo de un estrés oxidativo hepático por T<sub>3</sub> a nivel microsomal, caracterizado por aumentos en la RMSA y emisión de especies excitadas. Financiado por DIB-B-1860 y FONDECYT, 8/1987.

**ENSAYO INMUNORADIOMETRICO DE ALTA SENSIBILIDAD: USO DE UNA FASE SOLIDA NO CONVENCIONAL.** (Use of a non-conventional solid phase for the standardization of a high sensitivity immunoradiometric assay). A. Ferreira. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La cuantificación de antígenos (ag) y anticuerpos (ac) mediante el uso de ensayos inmunoradiométricos (IRMA) o inmunoenzimáticos (ELISA) cuenta con una variedad de tipos de fases sólidas tales como PVC, poliestireno, Sepharosa activada o unida a proteína A, nitrocelulosa, etc. A estas fases se une el ag o el ac en forma covalente o no covalente. La captura del ligando se hace a partir de mezclas moleculares complejas y su detección puede realizarse con un segundo ac radiomarcado o unido a una enzima.

Recientemente, hemos estandarizado un IRMA de alta sensibilidad usando como fase sólida partículas de sílica de 40 u de diámetro a las cuales se ha unido covalentemente grupos lipídicos octadecílicos, altamente hidrofóbicos (Waters Assoc, New Milford, Mass). Con este producto hemos realizado IRMAs para uno o dos sitios antigénicos, uniendo un 1er ac monoclonal a la fase lipídica y capturando el ag (proteína sexolimitada) a partir de plasma completo de ratón. Luego se usó un segundo anticuerpo monoclonal radiomarcado con <sup>125</sup>I. La sensibilidad lograda con esta fase es diez veces superior a la obtenida en ensayos similares usando placas de PVC.

La gran superficie específica y la modificación química de esta fase sólida, ofrece gran potencial para desarrollo de IRMAs que permiten detectar picogramas de antígenos si se dispone de anticuerpos monoclonales o purificados por afinidad.

Financiado Proyectos: UNDP/World Bank/WHO y FONDECYT Nº 0463.

**ORGANIZACION Y PURIFICACION DE PROTEINAS DE LA MEMBRANA EXTERNA DE Thiobacillus ferrooxidans R<sub>2</sub>.** (Organization and Purification of Outer Membrane Proteins from Thiobacillus ferrooxidans R<sub>2</sub>). Ferreira, A., Gómez-Silva, B. y Rodríguez, M. Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

La proteína más abundante en la membrana externa del bacilo quimiolitotrófico *T. ferrooxidans* existe en la forma de un oligómero de alrededor de 110 kDa. Su rol funcional en la membrana externa está siendo investigado y hemos propuesto recientemente que actuaría como una porina de *Thiobacillus*.

La proteína fue purificada de fracciones de membranas totales y membrana externa de *T. ferrooxidans* R<sub>2</sub>, crecido en medio líquido inorgánico, con FeSO<sub>4</sub> como fuente energética.

Al purificar el oligómero por filtración en gel, la estructura cuaternaria de la proteína es desestabilizada, resultando en la purificación del monómero de 40 kDa. Este ha perdido la capacidad de reorganizarse como oligómero, aún en presencia de lipopolisacárido. Dos propiedades del oligómero formando parte de la membrana externa se consideraron para purificarlo, preservando su estructura cuaternaria. Uno, su insolubilidad frente a detergentes (SDS, Tritón X-100) a temperaturas moderadas, los que permiten solubilizar la mayoría de las proteínas de membranas. Dos, resistencia del oligómero a proteólisis. Las proteínas contaminantes remanentes fueron digeridas con tripsina, un tratamiento que no afecta al oligómero y permite su recuperación en un alto grado de pureza.

Financiado por Grant CHI-85/002 de PNUD-UNIDO.

\*Dirección actual: Instituto del Desierto (INDES), Universidad de Antofagasta.

**GABA y D-GLUTAMATO INHIBEN LA LIBERACION DE 3H-L-GLUTAMATO DESDE CORTES SUPERFUNDIDOS DE CEREBELO, INDUCIDA POR ESTIMULACION DE CAMPO.** (GABA and D-Glutamate inhibit the release of 3H-L-Glutamate from superfused cerebellar slices, induced by electrical field stimulation). Figueroa, H., Monichi, E., Rodríguez, J. y Hernández, D. Laboratorio de Neurofarmacología, Pontificia Universidad Católica, Talca y Facultad de Ciencias, Universidad de Talca. (Patrocinio: L.C. Contreras).

Cortes de cerebelo de ratón, de 300 µm de grosor, previamente cargados con 3H-L-Glutamato, fueron superfundidos con una solución de Krebs Ringer Fosfato (KRP), en una cámara de lucita con un flujo de 4 ml/min. A lo largo del experimento se recogieron fracciones del superfusado de 1 ó 4 min. Los cortes fueron estimulados con pulsos cuadrados de 2 ms, 10 Hz y 25 mA durante 1 min a los 23 min (S1) y 51 min (S2) de superfusión. Después de S1 los cortes fueron superfundidos con KRP sólo (controles) o con KRP conteniendo 1 mM de D-Glutamato o taurina o GABA o KRP sin calcio + EGTA (0.1 mM) o GABA + Picrotoxina (0.1 mM). Al final de la superfusión los cortes fueron solubilizados y la radiactividad de los cortes y alícuotas del superfusado fue determinada por espectrometría de centelleo líquido. La liberación fraccional de tritio se calculó para S1 y S2. La razón de liberación fraccional S2/S1 no fue modificada por taurina, sin embargo, disminuyó a un 60% (p < .01), 58% (p < .01) y 68% (p < .05) en presencia de D-Glutamato 1 mM, KRP sin calcio y GABA 1 mM respectivamente. Por otra parte, la presencia de Picrotoxina 0.1 mM bloqueó la acción inhibitoria de GABA 1 mM.

Se concluye que la liberación estimulada de 3H-Glutamato, en el cerebelo, es modulada por GABA y D-Glutamato. Se discute la posible ubicación de los receptores para estos neurotransmisores.

Financiado por Proyecto DIUC 166/85.

**U-RNP EN EL CUERPO CROMATOIDE DE ESPERMATIDAS DE RATA. ¿PROCESAMIENTO CITOPASMÁTICO DE RNA? (U-RNP in the Chromatoid body of rat spermatids. Cytoplasmic Processing of RNA?).** Figueroa, J. y Burzio, L. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

El cuerpo cromatóide (CC) es un organelo citoplasmático claramente distinguible en espermátidas. Su presencia en una gran variedad de especies sugiere un rol fundamental durante espermatogénesis. Sin embargo, su génesis, segregación durante meiosis, su composición y función son aun un misterio. Por primera vez se han desarrollado métodos para aislar CC. Uno de ellos consiste en centrifugación diferencial, tratamiento con Tritón X-100 y centrifugación en gradientes de sacarosa. Para evitar pérdida de vesículas asociadas al CC se usaron gradientes de metrizamida. Así, se obtienen preparaciones de alrededor de 80% de CC. Mediante electroforesis (SDS) se encontró que el CC está constituido por una compleja mezcla de polipéptidos con PN entre 10.000 y 150.000. Más interesante es la presencia de RNA. El análisis electroforético (7M urea) reveló una población heterogénea donde destacan bandas de RNA que van entre 7S y 4,5S con ausencia de tRNA. Algunas de estas bandas parecen corresponder a U-RNA (U1, U2, U4, U5 y U6), lo cual ha sido corroborado mediante "Western blot", donde algunos polipéptidos son reconocidos por dos anticuerpos anti-Sm (pacientes K y E con lupus) los que reconocen las RNP que contienen estos RNAs pequeños. Todo esto, ha sido confirmado mediante inmunocitoquímica ultraestructural (oro-coloidal-prot. A) lo cual descarta la posibilidad de contaminación. También, se logró marcar *in situ* el CC con un anticuerpo anti-CAP específico para el 5'-terminal de los U-RNA (m<sub>3</sub>276). Lo anterior demostraría la presencia de los componentes del "Spliceosome" en el CC, lo cual sugiere la provocativa hipótesis de procesamiento de RNA en el citoplasma de la espermátida. Financiado por proyectos: RS-85-10, DID UACH; 1/61 457 Stiftung Volkswagenwerk, Alemania y Nº 186, FONDECYT.

MORFOANATOMIA DE ORGANOS VEGETATIVOS EN *SCHINUS POLYGAMUS* Y RELACION CON EL DAÑO POR INSECTOS FORMADORES DE AGALLAS. (Morphoanatomy of vegetative organs in *Schinus polygamus* and their relationship with gall maker insects). Flores, E., Mujica, A.M., Gómez, M. Laboratorio de Botánica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile. Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso. (Patrocinio: G. Montenegro).

*Schinus polygamus* es un arbusto siempreverde frecuente en el matorral de Chile Central, tanto en la costa como en el interior entre Aconcagua y Valdivia. Presenta la particularidad de ser atacado por insectos formadores de agallas, principalmente en hoja, a partir de fines del período de crecimiento vegetativo. Organos reproductivos permanecen intactos.

El objetivo de este trabajo es analizar los cambios estructurales en hojas y tallos durante la formación de agallas y los tejidos involucrados en este proceso.

Para el análisis de los caracteres morfológicos se escogió la localidad de San Carlos de Apoquindo al Oriente de Santiago. Las muestras recogidas en el terreno se fijan en FAA, deshidratación e inclusión en paraplast. La tinción fue Safranina-fast-green.

La obtención de los órganos muestra un cambio morfoanatómico en hojas y tallos solo en órganos nuevos. Las agallas muestran una diferenciación morfológica e histológica que está en estrecha relación con la transformación de los tejidos comprometidos.

Los resultados se discuten en términos de su relación con mecanismos de defensa de las plantas.

Proyecto FONDECYT 0692-87

ASLAMIENTO REPRODUCTIVO Y VARIACION GENETICA ENTRE *Rhagoletis conyersi* y *R. nova* (DIPTERA TEPHRITIDAE). (Isolation mechanisms and genetic variability among *Rhagoletis conyersi* and *R. nova* (Diptera Tephritidae)). Frias, D. Departamento de Biología, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación.

*R. nova* y *R. conyersi* son especies parecidas que viven en plantas de la familia Solanaceae. Interesa estudiar los mecanismos de aislamiento reproductivos y estimar la variación genética entre estas especies a fin de comprender los mecanismos que intervienen en la especiación. Para cada especie, se estudio sus épocas reproductivas y se cruzaron experimentalmente. La variación genética se estimó a través de electroforesis analizando varios sistemas enzimáticos.

Existe aislamiento pre y post copulatorio entre *R. conyersi* y *R. nova*. Así, además de vivir en plantas diferentes existe un mecanismo de aislamiento estacional. Los cruzamientos revelan que es posible obtener una F1 pero en las hembras híbridas los espermios de los machos parentales se inmovilizan. Además la espermatogénesis de los machos F1 es incompleta. El análisis alozimico muestra ausencia de diferencias genéticas apreciables.

Se valida el estatus de especies plenas de *R. nova* y *R. conyersi* y se refuerza la idea de que *R. nova* derivó simpátricamente de *R. conyersi* en un tiempo evolutivo relativamente breve. Financiado con proyecto B 1856-8533 D. I. B. Universidad de Chile y proyecto BL 87-05 Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación.

ANGIOTENSINA II Y ADRENOCORTICOTROFINA ACTIVAN LA SINTESIS DE NOVO DE DIACILGLICEROL EN CELULAS DE GLOMERULOSA ADRENAL. (Angiotensin II and Adrenocorticotrophin activate the de novo synthesis of diacylglycerol in adrenal glomerulosa cells). Foster, R. y Farese, R., Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Department of Internal Medicine, College of Medicine, University of South Florida, Tampa, Florida, Estados Unidos. (Patrocinio: G. Ormeño).

Angiotensina II (AII) y adrenocorticotrofina (ACTH) controlan la síntesis y secreción de aldosterona a través de dos mecanismos diferentes. AII activa la hidrólisis de fosfatidilinositol 4, 5bisfosfato (PIP<sub>2</sub>) generando como consecuencia dos señales: Ca y diacilglicerol (DAG). Este último activando la proteínaquinasa C aumenta la producción de aldosterona, efecto que es obtenido también por esteres de forbol. La acción de ACTH, en cambio estaría mediada por AMPc, sin que afecte la hidrólisis del PIP<sub>2</sub>. Hay evidencia de que tanto AII como ACTH aumentan la síntesis de ácido fosfatídico. Se desconoce si éste puede ser una fuente adicional de DAG en la acción de AII y menos aún si se genera durante la acción de ACTH. Por esta razón examinamos los efectos de AII y ACTH en la síntesis de novo de DAG en células de glándula adrenal de bovino. Encontramos que ambos agonistas aumentan la masa de DAG (425 a 675 nmoles de DAG/10<sup>7</sup> células para ACTH y 475 a 775 nmoles de DAG/10<sup>7</sup> células para AII, control versus estimulado, durante el primer minuto de incubación) y la incorporación de (<sup>3</sup>H) glicerol en DAG (3000 a 3700 cpm/10<sup>7</sup> células para ACTH y 3000 a 4000 cpm/10<sup>7</sup> células para AII, control versus estimulado, al primer minuto de incubación). Estos resultados muestran que la ruta ácido fosfatídico diacilglicerol da cuenta de una fracción importante del DAG formado.

CONSIDERACIONES SOBRE LA PRESENCIA DE *Semicossyphus maculatus* (PISCES: LABRIDAE) EN SITIOS ARQUEOLOGICOS DEL NORTE DE CHILE. (Considerations concerning to the occurrence of *S. maculatus* in archeological sites in the North of Chile.) Fuentes, H.R. Departamento de Biología Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena.

Se han encontrado osamentas de peces en diversos sitios arqueológicos del Norte de Chile, las cuales han sido identificadas como pertenecientes a esta especie costera, de hábitos bentónicos y de sustrato rocoso. No existen en la actualidad antecedentes que indiquen en que forma estos peces eran capturados, solo se conoce el nivel de desarrollo cultural alcanzado por estos grupos, que utilizaron el recurso, incluía el uso del anzuelo y del arpón como arte de pesca y la navegación en embarcaciones rudimentarias para desplazarse cerca de la costa. En excavaciones arqueológicas mediante el método de cuadrículas de 2 x 2 m en niveles de 0.5 m. de profundidad se encontraron huesos de peces en sitios de La Serena y de Iquique.

Al comparar los restos de peces encontrados, con huesos de animales recientes se concluye que, estos corresponden al premaxilar, al dentario y al complejo hipural de *S. maculatus* de ejemplares de peso superior a los 4.0 kg y de un targo total que supera los 60.0 cm. En consideraciones sobre la captura de los ejemplares, se concluye que esta se efectuaba principalmente, desde peñones rocosos o desde embarcaciones, mediante el uso de arpón o anzuelo. La pesquería efectuada por los pueblos antiguos, comparada con la pesquería actual de la especie, sugiere cambios en la conducta natural y en las densidades poblacionales ya que, en la actualidad ejemplares de tamaño similar al de los encontrados en los sitios arqueológicos, solo es posible capturarlos mediante buceo, por uso de arpón moderno y, su presencia, en la población natural es escasa.

**ASOCIACION DE LA ACETILCOLINESTERASA A LA MEMBRANA PLASMÁTICA NEURONAL.** (Association of the acetylcholinesterase to the neuronal plasma membrane). Fuentes M.E.\* e Inestrosa, N.C. Unidad de Neurobiología Molecular, Depto. Biología Celular. P. Universidad Católica de Chile.

Las modificaciones post-traduccionales de la acetilcolinesterasa (AChE) determinan el tipo de interacción de la enzima con las distintas estructuras celulares. El tallo colagenoso de las formas asimétricas ancla la proteína a la lámina basal sináptica. En cambio, para las formas globulares dimericas es un glicolípido que contiene fosfatidilinositol (PI) el responsable de la asociación a la membrana plasmática. En este trabajo se caracterizó la interacción de la forma tetramérica de la enzima ( $G_4$ ) a la membrana neuronal. Marcando selectivamente el dominio hidrofóbico se observó que éste se encuentra en una subunidad no catalítica de 20 Kd, asociada por puentes disulfuro al resto de la proteína. Por proteólisis limitada se liberó un fragmento de 13 Kd, que contenía la mayor parte del dominio hidrofóbico y a su vez era responsable de la asociación de la enzima a la membrana plasmática, ya que su remoción transforma a la AChE  $G_4$  hidrofóbica en una especie hidrofílica, sin afectar el resto de la estructura cuaternaria ni su actividad catalítica. Además la subunidad de 20 Kd contiene un fragmento de 6 Kd, insensible a la acción de pronasa y no contiene PI. Esto demuestra que la forma  $G_4$  de la AChE está asociada a la membrana por un mecanismo distinto al de la forma dimerica de la enzima.

Financiado por DIUC 77/86 y FONDECYT 706/87.  
\*Becaria de la FUNDACION ANDES.

**CARACTERISTICAS DEL TRANSPORTE DE L-LEUCINA Y L-ALANINA EN MEMBRANA BASOLATERAL DE ESTOMAGO PERFUNDIDO** (Characteristics of L-leucine and L-alanine transport at the basolateral membrane of perfused stomach) Fuentes, Q.\* y Bravo, I., Dpto. Ca. fisiológicas. Universidad de Concepción. \* Dpto. Ca. Bási cas. IPROCH, Chillán.

Mediante el método de dilución de trazadores fue estudiado el transporte de dos aminoácidos neutros a nivel de la membrana basolateral en estómago de perro, perfundido a flujo constante con Tyrode-albúmina.

De la cooperación de las concentraciones de cada aminoácido con las de un trazador extracelular ( $Na^{22}$ ) fueron obtenidos valores de captación celular de  $30.62 \pm 12.2\%$  para L-( $^3H$ )alanina y de  $35.1 \pm 13.2\%$  para L-( $^3H$ )leucina. A partir de los valores de captación se determinó el influjo ( $v$ ) del aminoácido mediante la siguiente expresión:  $v = Fp Ca 0.01 Ua \times$ , los que al graficarse en función de la concentración del aminoácido en el perfusado siguen una cinética de saturación tipo Michaelis-Menten. Los parámetros cinéticos calculados para ambos aminoácidos fueron: para alanina,  $V_{max} = 0,294 \mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$  y  $K_t = 3,92 \text{mM}$ . Para leucina fue necesario decomponer un sistema aparentemente difusional del sistema, el que dió una  $V_{max} = 4,608 \mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$  y un  $K_t = 52,86 \text{mM}$ . El transporte de alanina es mediado por un sistema sodio dependiente, en cambio leucina parece ser transportada por un sistema tipo L. La especificidad relativa de estos sistemas de transporte fue parcialmente caracterizada mediante experimentos de autoinhibición e inhibición cruzada. Proy. D.I. 20.33.17

**AMINOTRIAZOL INHIBE LA SINTESIS DE ACIDOS BILIARES INDUCIDA POR COLESTERAMINA.** (Aminotriazole inhibits the bile acids synthesis induced by cholestyramine). Fuentes, O.R. Departamento de Ciencias Básicas, División Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se ha propuesto un papel del peroxisoma hepático y su sistema de  $\beta$ -oxidación en la síntesis de ácidos biliares. Con el objeto de estudiar la importancia funcional de este sistema, se investigó el efecto de la inhibición de catalasa hepática por 3-amino-1,2,4-triazol (AT) en la secreción de ácidos biliares y en el nivel de colesterol hepático y plasmático en presencia de colestestramina (CA). Ratas tratadas con AT+CA por 7 días muestran un 85% de inhibición de catalasa hepática acompañada de una reducción del flujo biliar (50%) y de la concentración de ácidos biliares en bilis (50%) y en suero (15%), con respecto a ratas controles. La disminución de ésteres de colesterol ( $P < 0.001$ ) da cuenta de la reducción del colesterol plasmático total, en tanto que la disminución del colesterol hepático afecta al colesterol libre y esterificado. Los resultados indican que: 1. La síntesis de ácidos biliares estimulada por colestestramina es bloqueada por la inhibición de catalasa hepática, sugiriendo la participación del peroxisoma. 2. la hipocolesterolemia observada se debería a una menor absorción de colesterol y/o al aumento del catabolismo de lipoproteínas de baja densidad (LDL) plasmática.

**ACIDIFICACION EN VESICULAS ENDOCITICAS: REQUERIMIENTOS IONICOS.** (Acidification in endocytic vesicles: ionic requirements). Gaete, V., Cecchi, X., Núñez, M.T. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Se diseñó un método rápido de purificación de vesículas endocíticas que contienen en su interior fluoresceína isotiocianato (FITC)-transferrina. El método comprende rompimiento celular por congelamiento y descongelamiento, centrifugación diferencial, filtración a través de Bio-Gel A-5 y gradiente isopícnica en Percoll.

Estas vesículas acidifican su interior en presencia de ATP-Mg, lo que se observa como una disminución de fluorescencia de la FITC-transferrina. El bombeo es mediado por una ATP dependiente de  $Mg^{2+}$ , insensible a ouabaina, y parcialmente inhibida por 7-cloro-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3 diazol (NBD-Cl) y N-etilmaleimida. La acidificación requiere de un anión permeante en el medio externo. La selectividad aniónica es  $Cl^- > Br^- > I^-$ . Evidencias preliminares indican que el bombeo es electrogénico y que la gradiente eléctrica generada por dicho bombeo es disipada por un canal con selectividad al  $Cl^-$ .

Financiado por el D.I.B., Universidad de Chile, FONDECYT y National Science Foundation.

EXPRESION DE GLICOPROTEINAS ESPECIFICAS DE OVIDUCTO DE CONEJA DESPUES DE INDUCIR OVULACION. (Expression of specific rabbit oviductal glycoproteins after inducing ovulation). Cajardo, G. y Kaltwasser, G. - Laboratorio de Endocrinología, Facultad Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. Santiago.

El oviducto es el sitio anatómico en el que tienen lugar las interacciones entre gametos. Las características endocrinas que presentan las especies durante el período fértil hacen pensar que hormonas deben modular la presencia y/o ausencia de proteínas específicas en el oviducto cuya función es el interactuar con gametos y/o embriones.

Nosotros previamente hemos descrito al menos 4 diferentes proteínas oviductales de coneja después de inducir ovulación. En geles SDS-PAGE presentan pesos moleculares de 91KD, 62KD, 50KD y 45KD. Además el líquido oviductal conteniendo estas proteínas es capaz de inducir un aumento en la incorporación de 3-H uridina en huevos; también los embriones logran un mayor número de células por embrión.

Análisis posteriores del líquido oviductal después de inducir ovulación con LH-RH hemos encontrado la presencia de a lo menos 2 glicoproteínas con residuos N-acetil glucosamina de pesos moleculares entre 35-45 KD. Estas proteínas no se encuentran en el suero del animal y aparecen entre 36-48 horas post LH-RH y se mantienen hasta al menos por 144 horas. El líquido oviductal basal posee una glicoproteína de alrededor de 95-100 KD que desaparece con igual temporalidad que la aparición de las mencionadas proteínas.

Los resultados sugieren una acción hormonal que deriva en la expresión diferencial de proteínas oviductales y que estas proteínas tendrían un rol en la interacción de gametos y/o embriones.

Financiado por Grant RF 86020

FARMACOCINETICA DE FENITOINA EN JOVENES Y SENESCENTES (Pharmacokinetics of Phenytoin in young adults and senescent). D. GALDAMES, A. Martinetti, L. Biagini, I. Soavedra. (Centro de Farmacología Clínica, Hosp. J.J. Aguirre, Universidad de Chile.

Con el objeto de estudiar posibles diferencias en los parámetros farmacocinéticos producidos por el proceso de envejecimiento, se llevó a cabo un estudio comparativo de ellos usando Fenitoina en dosis única oral (200 mg) e intravenosa (250 mg) en un grupo de voluntarios hombres sanos adultos (edad entre 20 y 25 años) y senescentes (edad entre 65 y 78 años).

Las curvas de niveles plasmáticos versus tiempo fueron concordantes con un modelo abierto de dos compartimientos y de ellos se extrajeron los siguientes parámetros cuyos resultados promedios fueron: tiempo de vida media  $29,1 \pm 17,8$  y  $23,2 \pm 11,9$  hrs.; Volumen de distribución  $0,85 \pm 0,24$  y  $0,77 \pm 0,3$  l/K; Constante de absorción  $0,5 \pm 0,2$  y  $0,88 \pm 0,5$  hrs; Clearance total  $2,8 \pm 1,2$  y  $3,5 \pm 2,3$  l/hrsxk; C. máx.  $1,5 \pm 0,4$  y  $2,15 \pm 0,9$  ug/ml y área bajo la curva ABC  $102,7 \pm 36,8$  y  $94,1 \pm 45,4$  ug/mlxhr. Al comparar estos resultados por análisis de variancia, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, lo que demuestra que a esa dosis de Fenitoina en el grupo de voluntarios sanos estudiados, no influye la edad en la disposición del fármaco.

Proyecto B-1445-8755 DIB y 5034-85 Fondecyt.

FLURBIPROFENO (FROBEN®) EN EL CONTROL DEL DOLOR POSTOPERATORIO EN CIRUGIA ORAL. (Flurbiprofen in the control of postoperative pain in oral surgery). Gallardo, F., Lobo, R., y Peña, S. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Hospital San Juan de Dios, Santiago.

Se efectuó un estudio comparativo doble-ciego entre la actividad analgésica del flurbiprofeno 100 mg (F), paracetamol 500 mg (P) y un placebo (PL) en una muestra de 73 pacientes con dolor postoperatorio moderado o intenso consecutivo a la extracción de terceros molares incluidos.

La actividad analgésica se determinó por medio de la variable "diferencia en la intensidad del dolor" (D.I.D.), una, dos o tres horas después de la administración de la primera tableta de (F), (P) o (PL), de acuerdo con el método de Cooper y Beaver. El análisis estadístico se efectuó por métodos paramétricos.

La actividad analgésica de (F) fue estadísticamente superior a (PL) y a (P) en los valores D.I.D. estudiados ( $p < 0.01$ ), mientras que (P) fue superior a (PL) solamente en el control de la segunda hora ( $p < 0.05$ ). Los efectos adversos reportados por (F) y (P) fueron mínimos no difiriendo estadísticamente de aquellos inducidos por (PL).

Se concluye que flurbiprofeno (Froben®) representa una interesante alternativa a otros antiinflamatorios no esteroidales en el control del dolor postoperatorio del paciente sometido a intervenciones quirúrgicas en la cavidad bucal.

CONTACTOS NEURALES DE CELULAS GANGLIONICAS EN TUBULOS RENALES DE LA RANA CHILENA (*Calyptocephalella caudiverbera*). (Neural contact of ganglionic cells in renal tubules of *Calyptocephalella caudiverbera*). Gallardo, R., Correa, R. y Morales, P. Departamento Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Existe actualmente acuerdo acerca de la distribución y modo de contacto de los terminales de las fibras de los nervios extrínsecos en varios vertebrados. Las estructuras del nefrón de peces y anfibios están ricamente innervadas y la tendencia actual confiere a dichos terminales una función vasomotora. También a estas fibras provenientes de la cadena ganglionar se les atribuye un rol fisiológico importante en la regulación de los electrolitos ( $Na^+$ ,  $K^+$  y  $Ca^{++}$ ). Los contactos neuronales en anfibios, de los terminales nerviosos de fibras intrínsecas renales no son conocidos. El objetivo de este trabajo es dar a conocer un estudio preliminar de estas relaciones.

Se usaron ranas chilenas, *Calyptocephalella caudiverbera*, adultas, de ambos sexos, anestesiadas con MS 222. Sus riñones se perfundieron con una solución Ringer-rana durante 30 min a presión constante; luego se extrajeron y sometieron a la técnica de tinción de plata mediante el método de Bielschowsky modificado; posteriormente se metidos a cortes de 5, 8 y 10  $\mu m$  y estudiados bajo microscopía óptica.

Los resultados indican que células ganglionares distribuidas en el parenquima renal poseen fibras nerviosas que se dirigen principalmente hacia los túbulos proximales y distales, donde establecen contactos, permitiendo comprender mejor el rol funcional del sistema nervioso autónomo en la función renal de los anuros acuáticos.

Financiado por D.I.B. Universidad de Chile, Proyecto N° B 1730/8534.

ESTRADIOL COMO POSIBLE MODULADOR DE LA INERVACION NORADRENERGICA DEL OVIDUCTO DE LA RATA. (Estradiol as a possible modulator of the rat oviduct noradrenergic innervation). Gallequillos, X. Lab. Farmacol. Bioquim. Fac. Ciencias Biológicas, P. Univ. Católica y Depto. de Bioquímica y Biología Molecular, Fac. de Ciencias Básicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

En el oviducto de la rata demostramos que la liberación inducida de noradrenalina (NA) fluctúa con el ciclo estral, siendo máxima en el Estro y menor en el Metaestro. Dado que en este ciclo se describen cambios en los niveles plasmáticos de las hormonas sexuales, se ha sugerido la posibilidad de un efecto modulador endocrino en los terminales noradrenérgicos del oviducto. El hecho de que progesterona (P) inhiba la liberación de  $^3\text{H}$ -NA recién captada ha apoyado dicha sugerencia. En este trabajo se evalúa en el oviducto de la rata, las influencias del ciclo sexual en los contenidos de NA y el efecto de la ovariectomía (OVX) y del Estradiol (E) sobre la liberación de  $^3\text{H}$ -NA. Los niveles de NA endógena se midieron por HPLC con detección electroquímica. Se midió la liberación basal e inducida ( $\text{K}^+$  70 mM) de  $^3\text{H}$ -NA en oviductos preincubados con el trazador y superfundidos en un sistema estanco. Los oviductos se obtuvieron de animales en diferentes etapas del ciclo, o castrados y el efecto de la hormona se estudió "in vivo" e "in vitro".

La OVX (7 días) no alteró el peso del oviducto, pero disminuyó la captación y la liberación inducida de  $^3\text{H}$ -NA. E (0.5-1.0  $\mu\text{g}$ /diario, 6 días s.c.) no recuperó ni la liberación ni la captación. "In vitro" E ( $5 \times 10^{-7}\text{M}$ ) aumentó la liberación de  $^3\text{H}$ -NA solo en Estro, efecto que no se observó después de la OVX. Los niveles de NA endógena no mostraron cambios significativos aunque fueron más bajos (20%) en Proestro. Estos resultados confirman el control endocrino de la inervación noradrenérgica del oviducto y aparentemente el E al igual que la P serían señales regulares de la NA del oviducto.

Financiado con Proyecto DIUC 75/86

PROPIEDADES DE UN NUEVO SISTEMA VITRAL-BACTERIA NO EN *X. campestris*. (Properties of a new viral bacterial system in *X. campestris*). García-Quintana, H.G.; Valenzuela, E.; Polette, M. Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

La peste negra de los nogales, causada por *Xanthomonas campestris*, provoca fuertes pérdidas en la economía nacional de ese rubro. Estudios foráneos anteriores han pesquisado la presencia de bacteriófagos que la parasitan en condiciones de laboratorio y de terreno.

En nuestro Laboratorio se detectó por primera vez en Chile, la presencia de un virus que parasitaba *X. campestris* var *juglandis* y que conducía a la lisis bacteriana. En este estudio caracterizamos dicho virus desde ángulos morfológicos, funcionales y bioquímicos.

Demostremos que el fago que denominamos ME A<sub>1</sub> presenta entre otras, las siguientes cualidades: a) su morfología de tipo complejo es inusual; b) prolifera hasta títulos de  $1 \times 10^{11}$  pfu/ml en los lisados crudos; c) es virulento y produce placas de hasta 12 mm de diámetro; d) posee un sólo fragmento de DNA biténico de aproximadamente 40 kpb, bajo dos conformaciones excluyentes, relajada y superhelicoidal; e) lo conforman proteínas que fluctúan entre 21,5 y 115 kd distribuidas en 15 bandas en slab-gel SDS poliacrilamida; f) es sensible a irradiación con luz ultravioleta, a etanol y a temperaturas superiores a 40°C, pero es resistente a SDS, cloroformo, éter, tripsina y urea.

El hallazgo y caracterización de patrones virales nuevos, podría conducir ulteriormente al análisis de programas de control biológico de bacterias fitopatógenas. Proj. S-86-41, Direc. de Invest. y Desarrollo, Universidad Austral de Chile.

INFLUENCIA DEL ZINC SOBRE LA MOTILIDAD DEL ESPERMATOZOIDE (Zinc action on the spermatozoa motility). Gamboa, M.; Leiva, S. y Astudillo, J. Depto. Biología Celular y Genética, Fac. Med., U. de Chile.

Se ha considerado al zinc como un factor de regulación de la motilidad, de la capacidad de decondensación nuclear y del fenómeno de capacitación, pero no está claro el grado de participación del zinc intra y extracelular en la producción de estos fenómenos.

Con el objeto de conocer la concentración del zinc del espermatozoide y plasma seminal y su relación con alta y baja motilidad espermática se estudiaron semenes de pacientes con diferentes grados de motilidad y en ellos se determinó: la motilidad con método subjetivo y objetivo, la concentración de zinc intra y extracelular, por espectrofotometría de absorción atómica; distribución de la población de espermatozoides zinc positivo (Ditizona).

Los resultados indican que la motilidad determinada objetivamente es inferior ( $\pm 6\%$ ) a la subjetiva, existiendo alta correlación entre velocidad espermática y motilidad objetiva y subjetiva. ( $r=0.85$  y  $0.93$  respect). Semen con alta motilidad ( $>45\%$ ) tienen células con baja concentración de zinc ( $\bar{X}$  15.4  $\mu\text{g}/\text{esp}$ ) y alta en el plasma ( $\bar{X}$  97.2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ); semen de baja motilidad presentan zinc intra y extracelular muy similar ( $\bar{X}$  54.2  $\mu\text{g}/\text{esp}$  y  $\bar{X}$  41.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  respect), siendo mayor la concentración de zinc intracelular en éstos, comparados con los de alta motilidad. Semen teratospermicos tienen alta concentración intracelular, comparado con normoespermicos ( $p < 0.001$ ). Se detectó una mayor población (%) de células anómalas zinc positivo en relación a la población normal (oval).

Se puede deducir que concentraciones altas de zinc intracelular y alta frecuencia de células anómalas zinc positivas están implicadas en la disminución de la motilidad (zinc bloquea la cadena respiratoria, se une a SH de proteínas de membranas y del flagelo y/o alteración del flagelo?) produciendo con ello un deterioro importante de la calidad del semen (DB B-8713)

EFFECTOS GENOTÓXICOS IN VIVO DE AGUARDIENTES DE ELABORACION CASERA. (In vivo genotoxic effects of home made aguardientes). García R.M. y Cea C.G. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

Estudios epidemiológicos han correlacionado la prevalencia de cáncer gástrico humano con zonas geográficas de nuestro país productoras y consumidoras de aguardientes. Aún cuando los agentes etiológicos específicos de los aguardientes no han sido determinados, se sabe que el acetaldehído, catabolito del alcohol, es mutagénico. Por lo tanto, sus efectos in vivo, combinados con los de los demás componentes de los aguardientes, pueden dar por resultado una genotoxicidad aumentada que podría tener consecuencias múltiples, entre ellas la de promover los efectos de iniciadores carcinogénicos. Por esta razón se ha decidido investigar la genotoxicidad de los aguardientes, elaborados artesanalmente por diferentes procedimientos, completos y fraccionados.

En este informe se entregan los resultados obtenidos con cinco tipos de aguardientes completos, al evaluar su capacidad de inducir micronúcleos en eritrocitos policromatófilos de ratones Balb/c cuando éstos son inyectados intraperitonealmente con dosis de aguardientes de 0.02 ml/g de peso corporal con un contenido de etanol de 25° alcohólicos. Esta dosis es teratogénica en ratón.

Los resultados indican que los aguardientes presentan diferentes capacidades de inducir células micronucleadas en relación a cual ha sido su proceso de elaboración y con respecto a los controles negativos. Se analizan estadísticamente y se discuten estos resultados.

Financiado por la Dirección de Investigación de la Universidad de Concepción. Proyecto N° 20.31.18.

EFFECTO PROTECTOR DEL FLAVONOIDE SILYBINA DIHEMISUCCINATO EN LA HEPATOTOXICIDAD PRODUCIDA POR ACETAMINOFENO: ESTUDIOS *IN VIVO* Y EN HEPATOCITOS AISLADOS. (Protective effect of the flavonoids silybin dihemisuccinate on the hepatotoxicity induced by acetaminophen: Studies *in vivo* and in isolated hepatocytes). Garrido, A., Guerra, R., Campos, R. y Valenzuela, A. Unidad de Bioquímica Farmacológica, INTA. Universidad de Chile.

El acetaminofeno (ACP) es un analgésico no tóxico cuando se utiliza en dosis terapéuticas, sin embargo sobre dosis producen severa hepatotoxicidad caracterizadas por depleción de glutatión (GSH), lipoperoxidación (LP) y necrosis centrolobular. Nuestro grupo ha demostrado que la silybina dihemisuccinato (SHS) es un efectivo protector de la depleción hepática de GSH y de la LP inducida por diferentes xenobióticos tales como etanol y fenilhidrazina. Se ensayó el efecto protector de SHS sobre la toxicidad aguda producida por ACP en hígado de ratas y hepatocitos aislados. Machos Wistar fueron inyectados i.p. con 600 mg/kg de ACP y una hora después se les aplicó 25 mg/kg o 50 mg/kg de SHS por vía endovenosa. Los hepatocitos se prepararon perfundiendo el hígado con colagenasa. En ambos casos se determinaron los niveles de GSH y de LP, expresados como malonaldehído (MDA). En los experimentos *in vivo* se determinaron además los niveles séricos de las transaminasas glutámico-oxaloacético (GOT) y glutamino-pirúvica (GTP).

Nuestros resultados indican que SHS protege la depleción de GSH y el aumento de la LP producida por ACP, tanto *in vivo* como *in vitro*. El flavonoide previene el aumento de los niveles de GOT y GTP que produce el tóxico. Si bien el mecanismo del efecto protector no está claro aún, es posible que sea consecuencia de las propiedades antioxidantes y estabilizadoras de membranas de SHS. Aunque es preciso realizar numerosos estudios y pruebas clínicas, SHS podría constituir un antídoto contra la toxicidad del ACP complementando y/o reforzando la acción de antídotos ya utilizados como la cisteamina y la N-Acetilcisteína. (Financiado Proy. DIB. N.º B 239/8723 U. de Chile).

SOLUBILIZACION DE UNA PROTEINA QUINASA DE MEMBRANA ACTIVABLE POR POLILISINA (Solubilization of a membrane protein kinase activatable by polylysine). Gatica, M. y Díaz, H. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, División Ciencias Médicas Norte, Universidad de Chile.

La membrana citoplásmica de los oocitos de *Xenopus laevis* posee una actividad proteínica quinasa independiente de nucleótidos cíclicos y de  $Ca^{++}$ , pero que es estimulada por policationes como la polilisina. Esta actividad es capaz de fosforilar sustratos endógenos y además proteínas básicas como histonas y protaminas.

La actividad proteínica quinasa puede extraerse con concentraciones altas de NaCl (sobre 500 mM), con detergentes neutros como Chaps (3-[(Colamidopropil)dimetil amonio]-1-propanosulfonato) a concentraciones 100 mM, Tritón X-100 al 0,5% o por combinaciones de sal y de detergentes.

La actividad de la proteína quinasa solubilizada presenta algunas diferencias con respecto a la quinasa unida a membranas. Especialmente notorio es que la concentración de polilisina que resulta en activaciones óptimas con la enzima solubilizada es de ~ 2  $\mu$ M mientras que con las membranas se requiere 50  $\mu$ M del polication. Otra diferencia reside en la curva de progreso de la reacción que se mantiene lineal por 20' con la enzima solubilizada mientras que con la preparación de membranas la actividad decae después de 5'.

Se han realizado estudios sobre el comportamiento cromatográfico de la proteína quinasa solubilizada y de las proteínas que constituyen sustratos endógenos de esta actividad.

[Este trabajo fue financiado por FONDECYT, The Council for Tobacco Research, OEA y la Universidad de Chile.]

ACCION DE DIVERSOS AGENTES OSMOTICOS SOBRE EL TRANSPORTE DE SODIO EN PIEL DE SAPO. (Action of different osmotic agents on sodium transport in frog skin). Gazitúa, S., González, J., Carmona, C., Orellana, I. y Arévalo, C. Depto. de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Cs. Biol. y de Rec. Naturales, Universidad de Concepción.\*

En epitelios se ha descrito una relación directa entre volumen celular y transporte activo de sodio (TA). Se midió en cámara de Ussing la corriente de corto circuito (CCC) y la conductancia epitelial (gE), las cuales disminuyeron al agregar manitol a la solución Ringer-NaCl basolateral, pero se recuperaron en parte espontáneamente. Al término de la recuperación, el manitol se cambió por glucosa (no hubo efecto), por urea y en seguida por NaCl (aumento substancial de CCC y aumento menor de gE en ambos casos). Al agregar manitol a una solución Ringer-Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> basolateral, las caídas de CCC y de gE aumentaron al doble, pero se recuperaron aunque menos que con Ringer NaCl. La urea en Ringer sulfato revirtió los efectos del manitol.

A juzgar por los efectos sobre TA, la membrana basolateral es mucho más permeable a urea o a NaCl que a manitol o a glucosa. En base a estos resultados y a los de otros autores, la recuperación espontánea de TA en una célula hiperosmótica puede obedecer a la siguiente secuencia: aumento de la permeabilidad de la membrana basolateral a iones, influjo osmótico de agua, dilución del calcio del citosol y aumento del bombeo de sodio. La inhibición menor de TA en Ringer-NaCl con manitol puede explicarse por el co-transporte de NaCl basolateral, el que no es afectado por la deshidratación celular lo que sugiere que esta última no afecta el funcionamiento de toda la membrana, sino que afecta alguna de sus funciones por ejemplo, el bombeo de sodio.

\* Proyecto 20.33.25  
Dirección de Investigación.

MECANISMOS GABAERGICOS EN LAS ACCIONES ANALGESICAS DE MORFINA Y PENTAZOCINA (Gabaergic mechanisms in the analgesic actions of morphine and pentazocine). Germany, A.; Villar, M. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

Se ha demostrado la existencia de una relación entre la concentración de Gaba en el sistema nervioso central y la actividad analgésica de morfina. Nos ha parecido de interés estudiar si existe una acción similar cuando se emplean opiáceos agonistas-antagonistas, para lo cual se seleccionó la pentazocina. En este trabajo se estudia la interacción de morfina y de pentazocina con fármacos que actúan a través de mecanismos gabaérgicos en la respuesta analgésica inducida por esos opiáceos en el ratón.

Se utilizaron dos procedimientos algesiométricos térmicos en el ratón. Uno, el hot plate a 48°C y el otro, inmersión de la cola, a idéntica temperatura. Los analgésicos se administraron s.c. y los otros fármacos por vía i.p. Para el cálculo de significación estadística de los resultados se utilizó el análisis de varianza y el test de Student Newman-Keuls.

Los compuestos ensayados fueron el gamma vinilgaba, gamma acetilengaba y etilendiamina. Ninguno de ellos modificó la respuesta algesiométrica en los tests de analgesia utilizados. La acción de morfina se incrementó por la administración de los 3 gabaérgicos en ambos tests algesiométricos. En cambio ninguno modificó la respuesta a la pentazocina en el procedimiento de inmersión de la cola. Sin embargo, en el procedimiento de hot plate los fármacos gabamiméticos antagonizaron el efecto de pentazocina.

Los resultados sugieren la existencia de vínculos funcionales diferentes entre agonistas  $\mu$  y agonistas  $\kappa$  en los mecanismos gabaérgicos de la respuesta analgésica, lo que se aprecia de preferencia en el procedimiento de hot plate.

Proyecto 20.33.29. Dirección de Investigación.  
Universidad de Concepción

FOSFORILACION DE PROTEINAS Y EFECTOS DEL EGF EN SECRECIÓN GÁSTRICA. (Protein phosphorylation and effects of EGF on gastric secretion). González, A., Juica, F., Bull, P. y Garrido, J. Facultad de Medicina, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La secreción gástrica de ácido y pepsinógeno es estimulada por secretagogos tales como histamina, colinérgicos y gastrina, a través de la interacción con diferentes receptores, y la activación de al menos dos sistemas de transducción de señales extracelulares. El sistema de la adenilato ciclase es utilizado únicamente por histamina, en cambio colinérgicos y gastrina parecen activar la cascada de fosfatidil inositol e incrementar los niveles intracelulares de calcio.

El mecanismo de acoplamiento estímulo-respuesta desencadenado por estos secretagogos es interferido de alguna manera aún desconocida por la acción del factor de crecimiento epidérmico (EGF).

En el presente trabajo, se muestra que el EGF es capaz de inhibir, *in vivo*, ambas secreciones inducidas por forskolin, un activador directo de la adenilato ciclase. Sin embargo, en glándulas gástricas aisladas no se detectó inhibición de los incrementos de AMPc inducidos por forskolin en presencia de EGF, sugiriendo un efecto de esta hormona en etapas posteriores a la generación de AMPc.

Por otro lado, considerando que la fosforilación de proteínas bien podría jugar un rol importante en el proceso de secreción gástrica, y que el EGF en otros sistemas celulares estimula la actividad kinásica de su propio receptor, se presentan estudios que analizan parámetros dependientes de kinasas en relación con la secreción gástrica y los efectos del EGF.

INFLUENCIA DEL ESTRÉS CRÓNICO PRENATAL, PERINATAL Y PERI-ADOLESCENCIAL SOBRE LA ACTIVIDAD MOTORA Y LA CONDUCTA SOCIAL EN LA RATA (Influence of prenatal, perinatal and periadolescent chronic stress on motor and social behavior in the rat). González, A., Cabrera, R., Rodríguez Echandía, E., Fóscolo, M. Laboratorio de Investigaciones Cerebrales, CONICET-Univ. Nac. de Cuyo, Mendoza, Argentina. (Patrocinio: Bertini, F.)

Algunas experiencias tempranas afectan el desarrollo de algunos sistemas de neurotransmisores cerebrales produciendo influencias conductuales permanentes. En este trabajo se analizan efectos de estreses crónicos, administrados durante la vida prenatal (fecundación-día 20), perinatal (días 2-15) y periadolescentia (días 30-45), sobre actividad motora y comportamiento social en ratas machos y hembras. Se utilizaron tres modelos de estrés repetitivo (sesiones diarias de frío, manoseo y superpoblación) y un modelo de estrés aleatorio (sesiones diarias de estreses imprevisibles). La conducta social fue analizada mediante tests de agrupamiento espontáneo (10 min.) en ratas de 6 días y test de interacciones sociales activas (5 min.) en ratas de 35, 44 y 60 días. La actividad motora fue medida con un procesador de actividad animal. Es estrés aleatorio prenatal incrementó la actividad motora, pero redujo significativamente (ANOVA I) el tiempo de interacciones sociales en machos de 44 días. El estrés aleatorio perinatal produjo un incremento en las interacciones sociales con respecto a los grupos control y de estrés repetitivo, que se manifestó en los tests de agrupamiento y de actividad social. Todos los modelos de estrés perinatal indujeron un incremento en la actividad motora. La superpoblación crónica periadolescentia estimuló el comportamiento social a los 60 días; los tratamientos periadolescentiales no modificaron la actividad motora. Los resultados muestran que algunas manipulaciones estresógenas realizadas en forma crónica durante el desarrollo prenatal y en algunos períodos críticos del desarrollo postnatal inducen cambios de larga duración en la actividad motora y/o la conducta social en la rata.

RUPTURA BACTERIANA DE ENLACES INTERMONOMERICOS EN COMPUESTOS MODELO DE LIGNINA. (Bacterial cleavage of interunit bonds in lignin-model compounds). González, B., Sapag, A. y Rüttimann, C. Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Debido a la complejidad de la macromolécula de lignina, es común utilizar compuestos modelo para evaluar la acción degradativa de hongos y bacterias. Los más usados son dímeros del tipo arilglicerol- $\beta$ -ariléter y 1,2-diarilpropano, que poseen enlaces intermonoméricos del tipo  $\beta$ -O-4 y  $\beta$ -1, respectivamente, y que comprenden alrededor del 60 % de los enlaces hallados en este polímero. Hemos aislado un pequeño número de cepas bacterianas naturales capaces de utilizar compuestos dímeros como única fuente de carbono y energía. Una de ellas, identificada como *Pseudomonas acidovorans* Ds, degrada eficientemente veratríglicerol- $\beta$ -guaiaciléter (V66E) y guaiacilglicerol- $\beta$ -guaiaciléter (G66E), dos modelos con enlace  $\beta$ -O-4. Se han identificado, por HPLC y EN-6C, los intermediarios que se liberan al medio de cultivo durante el crecimiento de esta cepa en V66E. Ello ha permitido determinar que se produce ruptura del enlace intermonomérico con formación de guaiacol y  $\beta$ -hidroxipropioveratrón. Este último compuesto es degradado posteriormente a acetoveratrón y ácido verátrico. Por otra parte, la cepa *Pseudomonas fluorescens* biovar I A<sub>2</sub> es capaz de crecer en compuestos derivados de la benzoina, una estructura que contiene un enlace tipo  $\beta$ -1. Se ha determinado *in vivo*, que esta cepa rompe el enlace intermonomérico en algunos de estos derivados. En un extracto crudo preparado de células de *P. fluorescens* biovar I A<sub>2</sub> crecida en 4,4'-dimetoxibenzoína, se encuentra una actividad enzimática que rompe el enlace C-C del modelo dímero con formación del aldehído monomérico respectivo. En esta presentación se incluye información preliminar acerca del fraccionamiento parcial de esta actividad. A partir de un banco genético de la cepa *Pseudomonas fluorescens* biovar I A<sub>2</sub> construido en el cosmidio de amplio espectro de hospedador pLAFRI, se ha clonado en *Pseudomonas putida* 2240 el gen que codifica para la enzima que cataliza la ruptura del enlace  $\beta$ -1.

Financiado por FONDECYT, NSF y CELULOSA ARAUCO Y CONSTITUCION

ACCIONES COMPARATIVAS DE ANGIOTENSINA II, L-ADRENALINA Y L-ISOPROTERENOL, SOBRE EL TRANSPORTE DE CLORO. (Comparative actions of Angiotensin II, l-adrenalin and l-isoproterenol on Cl<sup>-</sup> transport). González, C., Concha, J. \* Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Koefoed-Johnsen et al. encontraron que la variación de la corriente de corto-circuito en la piel de batracio, estimulada con adrenalina, podía deberse no totalmente al transporte de iones Na. Esta corriente "no sédica" estimulada por adrenalina, podría deberse al transporte activo (serosa a mucosa) de iones Cl<sup>-</sup>. Ya que la estimulación con noradrenalina, produce la aparición de mucus sobre la superficie de la piel, parece razonable proponer, que la respuesta secretoria de Cl<sup>-</sup>, estuviera localizada en las células glandulares.

La importancia del co-transporte de Na-K-Cl, se estudió en piel aislada de sapo (*Pleurodena thaufl*).

En pieles pretratadas con amilorida ( $1 \times 10^{-4}$ M), angiotensina II ( $1 \times 10^{-6}$ M), l-adrenalina ( $1 \times 10^{-6}$ M) y l-isoproterenol ( $1 \times 10^{-6}$ M), agregadas al lado serosal, producían un significativo aumento en la diferencia de potencial (PD) y en la corriente de corto-circuito (SCC). Cuando la solución Ringer del lado serosal, se reemplazó por Ringer sin cloro, el efecto de estas drogas sobre la PD y SCC fue abolida. Postulamos que el reemplazo de la solución Ringer por una libre de Cl<sup>-</sup>, previene el co-transporte Na-K-Cl<sub>2</sub>.

\* Proyectos 20.33.30 y 20.33.35

**RESPUESTA INMUNE ANTIESPERMATICA INDUCIDA POR VASECTOMIA.** (Anti-spermatic immune response elicited by vasectomy) González, F.E. Lab. Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinante: Lisette Leyton).

La vasectomía que consiste en el corte, resección y posterior ligazón de los segmentos medios del vas deferens, rompe la barrera hematotesticular que mantiene secuestrados los espermatozoides y gatilla una respuesta autoinmune contra ellos.

Para demostrar y caracterizar la respuesta inmune humoral antiespermatóica que genera la vasectomía, hemos utilizado el suero de humanos vasectomizados y reproducido experimentalmente la autorrespuesta antiespermatóica en ratones por medio de la vasectomía.

El análisis de sueros provenientes de individuos con 90 días de vasectomizados utilizando inmunofluorescencia indirecta, mostró que los autoanticuerpos generados se encontraban dirigidos, en su mayoría, hacia el acrosoma y ecuador del espermatozoide. Los anticuerpos reaccionan en forma cruzada contra estructuras acrosomales y de la cola del espermatozoide de ratón, lo que indica que proteínas estructurales presentes en gametos de ambas especies poseen dominios comunes.

Para identificar el blanco molecular de dichos anticuerpos, se ensayaron por Inmunowestern blot contra polipéptidos presentes en un extracto proteico de espermatozoides humanos y de espermatozoides de ratón respectivamente. Sobre el extracto proteico humano se observaron bandas inmunoreactivas entre 30 y 90 K, mientras que sobre el extracto de espermatozoides de ratón hay reactividad sobre un grupo de polipéptidos con movilidades relativas entre 56, 65 y 77 K.

Utilizando la vasectomía reproducimos la respuesta autoinmune antiespermatóica en ratones. Después de 90 días de sometidos a la operación, cerca de 1/3 de ellos desarrollan autorespuesta. El análisis por inmunofluorescencia mostró que los autoanticuerpos generados por los ratones vasectomizados, se encuentran dirigidos principalmente, hacia inmunógenos presentes en el acrosoma y la cola del espermatozoide.

Mediante Inmunowestern blot, se pudo identificar un polipéptido con movilidad relativa de 22 K, presente en la membrana del espermatozoide del ratón, contra el cual se observa reactividad de los anticuerpos antiespermatóicos generados por los ratones vasectomizados.

La inmunohistoquímica sobre testículo y epidídimo del ratón, mostró que los anticuerpos generados por los ratones vasectomizados, reconocen antígenos que aparecen durante la maduración del espermatozoide, a través de su tránsito por el tracto reproductivo.

Financiado por Grant IDRC 3-P-83-1006-01.

**EFFECTO DEL ETINILESTRADIOL SOBRE LA EXCRECION BILIAR DE LIPIDOS EN RATAS CON DIETA SUPLEMENTADA CON ACEITE DE Rosa moschata Mill.** (Effects of ethynylestradiol on biliary lipid excretion in rats fed a Rosa moschata Mill oil supplement). González, I., Lutz, M., Muñoz, E., y Vaccarezza, I. Departamento de Fisiología Normal y Patológica, Escuela de Medicina y Cátedra de Nutrición, Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso. (\*). (Patrocinio: M. RONCAGLIOLO)

La ingestión de dietas suplementadas con aceite de Rosa mosqueta (ARM), de alto índice de poliinsaturación, ocasiona una disminución del flujo biliar y un aumento de la excreción biliar de colesterol y fosfolípidos en ratas. Estos efectos podrían atribuirse a un incremento de la fluidez de membranas hepáticas. Para evaluar posibles efectos de un agente que disminuye la fluidez de membranas se aplicó 17- $\alpha$ -etinilestradiol (EE) en dosis diarias de 5 mg/kg (s.c.) en los 5 días previos a la recolección de bilis, después de 6 semanas con dieta de prueba. En ratas tratadas (ARM + EE) disminuyó la ingesta alimentaria, aumentó la relación peso hígado/100 g de peso corporal y disminuyó el flujo biliar y la excreción biliar de colesterol, fosfolípidos y ácidos biliares respecto a los animales no tratados (ARM). En ARM y ARM + EE la relación colesterol/fosfolípidos en la bilis fue  $0.23 \pm 0.05$  (n=9) y  $0.12 \pm 0.02$  (n=10), respectivamente ( $p < 0.001$ ). La disminución de esta relación puede reflejar una reversión de efectos de ácidos grasos poliinsaturados a nivel de la fluidez de la matriz lipídica de membranas hepáticas.

(\*). Trabajo financiado parcialmente por COESAM.

**VARIACION GENETICA EN DOS ESPECIES DE ROEDORES CRICETIDOS DURANTE EL CICLO ANUAL.** (Genetic population variation of two cricetids during an annual cycle). González L.A. Instituto de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

En roedores, se han descrito cambios de las frecuencias genéticas relacionados con fluctuaciones cíclicas de la densidad.

El estudio que se presenta, pretende analizar los aspectos temporales y espaciales de la variación genética en dos especies de roedores cricétidos presentes en el bosque higrófilo templado, *Akodon olivaceus brachiotis* y *Oryzomys longicaudatus philippii*. Ambas especies exhiben un ciclo anual de densidad y fluctuaciones multianuales.

El estudio se realizó en el Bosque Experimental San Martín, 74 Km al norte de la ciudad de Valdivia, X Región. Las poblaciones de ambas especies fueron estudiadas en dos retículos de trapeo (12 x 12 trampas), utilizando el método de captura, marcaje y recaptura. La variación genética se estudió mediante marcadores enzimáticos, utilizando muestras de sangre obtenidas de la arteria caudal y realizando la electroforesis en gels de almidón.

En ambas especies se observaron cambios estacionales de las frecuencias genéticas. En *A. olivaceus* se muestra una correlación negativa entre las frecuencias genéticas y la densidad con una tendencia a fijarse los alelos comunes durante la declinación poblacional, lo cual no se observa en *O. longicaudatus*. Además, los valores encontrados de  $F_{ST}$  indican una heterogeneidad espacial en *A. olivaceus*.

(Financiado parcialmente por el Proyecto RS-85-44, D.I)

**EFFECTO DIFERENCIAL DE LA ADMINISTRACION DE TIROGLOBULINA DE DIFERENTE ANTIGENICIDAD EN EL PERIODO NEONATAL.** (Differential effect of thyroglobulin of different antigenicity on the neonatal period). \*González, M., Esquivel, P., Folch, H. \*Fac. Farmacia, U. de Concepción. Inst. Med. Exp. U. Austral de Chile. (Patrocinio: P. Esquivel).

En el periodo post nacimiento del ratón se establecen los mecanismos de tolerancia a las moléculas propias. Para conocer la influencia de la inyección neonatal de Tiroglobulina (Tg), ratones RK entre 0 y 10 días de vida fueron inmunizados con Tg bovino (Tgb) o rata (TgR). Se titulan los niveles de anticuerpos anti Tgb, TgR y ratón (Tgr) previo y posterior a una inmunización con Tg + LPS en la vida adulta del ratón.

Los resultados demuestran que: a) los ratones neonatos discriminan entre las Tg produciendo distintos títulos anti Tg; b) la respuesta anti Tgb aparece muy alta a partir de las 24 hrs de vida, en contraste a TgR y Tgr que se detecta sólo a partir del 4º día de vida y con títulos bajos; c) no se generan células de memoria anti Tgr entre 0 y 3 días de vida, a diferencia de Tgb y TgR que lo hacen desde recién nacido.

Se discuten los resultados en relación a las distintas poblaciones celulares que emergen en el desarrollo ontogénico del ratón.

Proyecto RS-84-08. Dirección Investigación, Universidad Austral de Chile.

APARICION DE PROTEINAS DE ESTRES TERMICO EN TROZOS DE APICES RADICULARES DE Araucaria araucana (Heat shock proteins appearance in Araucaria araucana root tips explants). Goycoolea, C. y Cardemil, L., Depto. Biología, Fac. de Ciencias, U. de Chile

Las proteínas de estrés térmico (PET) se han detectado tanto en bacterias, insectos, animales y plantas de cultivo (soya, maíz, tomate, algodón, ta baco, zanahoria). Estos PET jugarían un rol en la adquisición de termotolerancia siendo al parecer un sistema muy conservado en la evolución.

El presente estudio se realizó en plántulas de Araucaria araucana de cinco días de germinación (radícula de 1.5 - 2 cm de longitud). A estas plántulas se le extrajo el eje embrionario para determinar el daño sufrido por el embrión a distintas temperaturas (28°, 32°, 36°, 40° y 44°C) y diferentes tiempos de tratamiento. Trozos de ápices radiculares (1 cm long.) fueron utilizados para determinar, por electroforesis en geles de poliacrilamida seguido de fluorografía, la aparición de PET marcados con <sup>35</sup>S-Metionina.

A 32° y 36°C PET de 117, 103.4, 96.4, 89.4, 76.6, 41.5 y 22.4 kd aparecen, a los 40° y 44°C hay una disminución de las proteínas respecto al control y las PET de 117, 96.4 y 22.4 kd sintetizadas a 32° y 36°C desaparecen. Esto se correlaciona con la fisiología del embrión que a estas temperaturas detiene su crecimiento sin recuperación posterior a 28°C.

La síntesis de las PET se discute con respecto a su posible rol en termotolerancia. (Proyecto DIB B1580-8755, U. de Chile).

RELACION ENTRE ORNITOFAUNA Y URBANISMO. (Relation between ornithofauna and urbanism). Grandjean, J.P. Depto. Ciencias Naturales-Biología, P.Universidad Católica de Chile-Temuco. (Patrocinio: J.N.Arenas).

La ornitocenosis se encuentra determinada por diferentes factores, entre los que destaca la diversidad ambiental, (MacArthur y MacArthur in Ralf, 1985).

La presencia de áreas urbanas representaría una fuente de diversidad ambiental y consecuentemente podría afectar la composición de la avifauna silvestre. Alternativamente es posible pensar que la presencia antrópica no modifica la composición de la avifauna.

Con el fin de verificar este probable efecto se plantea como objetivo central del presente estudio, comparar áreas inmediatamente periurbanas con áreas alejadas del radio urbano en bosque, pradera y río. Para tal efecto se seleccionaron estaciones de censo (observación y escucha) en cada uno de los diferentes ambientes en torno a la ciudad de Temuco (38° 43' S; 72° 35' W). A los datos obtenidos para cada estación se les aplicó los índices de diversidad Shannon-Wiener, Similitud de Jaccard, y Similitud de Wiener. De los resultados obtenidos, es claro que existe un gradiente de similitud taxonómica y biocenótica desde el radio urbano hacia las áreas más alejadas. Por otra parte, los índices de diversidad tienden a la diversidad máxima. De acuerdo a estos resultados es posible señalar que existe acción antrópica sobre la diversidad de aves lo cual se refleja en un cambio gradual en la composición de aves sin que exista un cambio importante en los valores de diversidad lo que indica una tendencia a la homogeneidad.

FUNCION DE LAS RAICES PROTEIFORMES DEL AVELLANO CHILENO. (Function of the proteoid roots of the Chilean avellano). Grinbergs, J. San Martín, C. y Ramírez, C. Institutos de Microbiología y Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile).

Las raíces proteiformes son conglomerados locales de raicillas que aparecen en el sistema radical de las Proteaceae, familia del avellano.

Para conocer la influencia de las raíces proteiformes sobre el desarrollo de las plántulas de Gevuina avellana se cultivaron 105 ejemplares de esta especie, 44 en suelo normal y 61 en suelo esterilizado. Sólo los primeros formaron abundantes conglomerados proteiformes. Los cultivos se mantuvieron 226 días y luego se cosecharon para contar el número de hojas y de conglomerados proteiformes por planta, medir el tamaño del vástago y la raíz y determinar la biomasa de los distintos órganos.

Las plantas con raíces proteiformes tuvieron un mejor desarrollo que aquellas sin esas estructuras radicales, siendo mayor la diferencia en la biomasa producida que en el tamaño alcanzado. Con esto se demostró que las raíces proteiformes dan ventajas a las plántulas que las poseen, al aumentar la superficie de absorción, permitiendo tomar mayor cantidad de agua y de nutrientes y aumentando con ello la fotosíntesis. Estas diferencias deben hacerse mayores a medida que aumenta la edad de la planta.

(Financiamiento de la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad Austral de Chile, Proyecto RS-85-27).

ACTIVIDAD DE ETIDOCAINA EN CELULAS CARDIACAS DE RANA. (Cardiac actions of etidocaine in frog cells).

Guerrero, S., González, C. y Morales, M. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

En oportunidades anteriores se ha dado a conocer el efecto de bupivacaína sobre diferentes tipos de células cardíacas de batracio. En este trabajo se estudia el efecto de etidocaína sobre el potencial de acción de un tipo de células marcapaso de rana, registrado con microelectrodos intracelulares.

Se ensayaron tres concentraciones diferentes del compuesto: 10  $\mu$ M, 30  $\mu$ M y 90  $\mu$ M. Los resultados fueron dosis-dependientes. La concentración inferior produjo solamente depresión de la fase 4 y del  $(dV/dt)_{max}$ , pero las otras dos concentraciones causaron otros efectos principalmente crónotropos negativos. Los efectos observados fueron reversibles, lo cual también fue dosis-dependiente. Como estas células del tejido sinusal poseen una proporción de su fase de ascenso en la que interviene una corriente rápida de sodio (células transicionales) no causó sorpresa que dicha fase de ascenso fuera también deprimida por el anestésico. Este efecto se observa muy claramente si se determina el valor de  $V_{max}$ .

Asimismo se demostró que las células despolarizadas por déficit de  $K^+$  mostraron también una mayor sensibilidad al efecto del fármaco.

Por otra parte se observó que una concentración de iones calcio mayor que lo normal protegió parcialmente a las células en estudio del efecto de la etidocaína.

(Proyecto B.2166-8734, DIB, Universidad de Chile).

**RATAS PUEDEN APRENDER UNA DISCRIMINACION DE RUGOSIDAD UTILIZANDO SOLO SUS VIBRISAS.** (Rats can learn a roughness discrimination using only their vibrissae). Guic-Robles, E., Guajardo, G. y Valdivieso, C. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La representación de las vibrisas faciales ocupa en la rata un 20% de la corteza somatosensorial primaria y ha sido llamada Subárea Posteromedial de los Barriles (PMBSE). Esta gran magnificación cortical ha hecho suponer que este sistema sensorial tendría una importante función conductual. Sin embargo, y a pesar de una gran cantidad de trabajos electrofisiológicos y anatómicos en este sistema, solo dos trabajos conductuales han demostrado que las vibrisas tendrían importancia en la obtención de información para guiar la conducta de la rata. Nuestro primer objetivo fue diseñar un aparato de entrenamiento en que los estímulos discriminativos fueran percibidos solo por las vibrisas. Luego de una serie de trabajos pilotos se logró una situación de entrenamiento adecuada. Nuestro segundo objetivo fue encontrar una tarea de discriminación que las ratas pudieran resolver utilizando las vibrisas. Se usaron ratas albinas (N=6) con oclusión binocular que fueron entrenadas 20 ensayos diarios en una discriminación simultánea de rugosidad. Los sujetos aprendieron la tarea (80% o más durante 3 sesiones consecutivas) en un promedio de 368.5 (+/-52.5) ensayos. Los sujetos mostraron un alto índice de retención al ser re-entrenados 10 días más tarde. Posteriormente se cortaron los bigotes a todos los sujetos y se volvieron a re-entrenar 350 ensayos, mostrando un rendimiento azaroso durante este periodo. Estos datos muestran por primera vez que las ratas pueden aprender una discriminación compleja, utilizando solo información percibida con las vibrisas.

Financiado por proyecto 5057 FONDECYT.

**MARCADORES GENÉTICOS: ISOENZIMAS EN TEJIDOS DE LOCO, CON CHOLEPAS CONCHOLEPAS (BRUGUIERE, 1789)** (Genetic markers: Tissue's isozymes of *C. concholepas*). Hermosilla G. Depto. de Biología Molecular, Laboratorio de Genética, Universidad de Concepción, Chile. (Financiado por Proyecto DIC: 20.31.07). (Patrocinio: F. Alay H.)

*C. concholepas* "Loco" es uno de los recursos malacológicos que está sometido a una explotación masiva en Chile. Con el objeto de preservar este recurso genético en peligro se hace necesario, además de las vedas, llegar a un cabal conocimiento de su biología.

Un aspecto biológico importante es el conocimiento de su estructura poblacional. Los métodos morfométricos y merísticos empleados con este fin han sido incapaces de definir la existencia de grupos diferentes, la distribución de los mismos o establecer el área de dispersión larval. Todos estos datos son necesarios para hacer un monitoreo genético de la especie y un buen manejo del recurso.

El método que emplea electroforesis de isoenzimas tisulares como marcadores genéticos que caracterizan poblaciones es uno de los más utilizados en poblaciones marinas para resolver los problemas mencionados anteriormente. Cada vez que se inicia un estudio de esta naturaleza en una especie es necesario adecuar la técnica.

La presente comunicación muestra en *C. concholepas* los zimogramas obtenidos de Fosfoglucomutasa (PGM, E.C. 2.7.5.1), Isocitrato dehidrogenasa (ICDH, E.C. 1.1.1.42), y Octopino dehidrogenasa (ODH, E.C. 1.5.1.11) y su comportamiento frente a las variables de tiempo de conservación, calidad del buffer, pH y tipo de tejido, también se caracteriza la actividad enzimática de cada una de ellas.

Se discute el posible uso de éstas en la determinación de polimorfismo a partir de una muestra anual.

**FACTORES TOPOGRAFICOS EN SECTORES COSTEROS DE CHILE CENTRAL: ALGUNOS EFECTOS SOBRE LA DISTRIBUCION DE LAS LLUVIAS Y DE LA VEGETACION** (Topographical factors in coastal areas of Central Chile: some effects on the distribution of rainfall and vegetation). Hajek, E.R., Espinoza, G.A. y Concha, M.C. Laboratorio de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile y Departamento de Biología, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación, Santiago.

En Chile la Cordillera de la Costa ejerce un efecto de "biombo" al modificar las condiciones climáticas locales, específicamente la precipitación y así podría tener efectos potenciales sobre la distribución de la vegetación. En este trabajo se analizan algunas de estas modificaciones y sus posibles efectos.

Se utilizaron datos de 30 Estaciones pluviométricas, localizadas entre los 32 y 36 de Lat. S. Las características de la vegetación fueron obtenidas a partir de la literatura. Se calculó gradientes latitudinales y se compararon tanto los montos promedios como ciertos años-tipo considerados secos o lluviosos, para distintas situaciones topográficas.

Las localidades de barlovento muestran valores de precipitación superiores en un 27% en relación al valor latitudinal esperado. A sotavento el incremento sólo es de 3,5%. En un año lluvioso los valores de barlovento superan en 7% los valores latitudinales; los de sotavento, en cambio, decrecen en un 13%. En un año seco se observa un fuerte incremento de las lluvias a barlovento (19%) y una notoria disminución hacia sotavento (39%).

Estas variaciones se discuten en función de gradientes latitudinales y altitudinales, de la extensión de los valles y terrazas marinas y de la envergadura de la cordillera costera. Se analizan áreas de comportamiento disímil atendiendo a un gradiente latitudinal, en vistas a la ocupación humana, y a los efectos sobre la distribución de la vegetación.

**DETERMINACION DEL EFECTO GENOTOXICO Y TERATOGENICO DEL FLUOR EN *Caudiverbera caudiverbera*.** (Determination of the genotoxic and teratogenic effect of fluor on *C. caudiverbera*). Hermosilla, I., Ortega, J., Venegas, V., Venegas, W. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales.

\* Alumna Facultad de Odontología. Universidad de Concepción. Proyecto DIC: 20.31.13.

Actualmente en los países desarrollados existe una gran controversia, con posiciones encontradas sobre la conveniencia o no de utilizar el fluor en forma de fluoruros (F<sup>-</sup>) como aditivo de agua potable, o en formas farmacéuticas de uso tópico, como elixires, geles, suplementos pediátricos, materiales dentales restaurativos, dentífricos, etc. Se ha afirmado que no habría efectos nocivos en la población humana si se usa en concentraciones de 1 ppm, lográndose como beneficio una notable reducción de las caries dentales a dicha concentración.

En la desembocadura del río Bío-Bío, Concepción, VIII Región, se ha encontrado en épocas estivales, concentraciones de hasta 20 ppm de F<sup>-</sup>. Sobre la base de estos datos, se estimó necesario estudiar el probable efecto mutagénico y teratogénico del fluor, utilizando el test de micronúcleos, y la determinación de malformaciones embrionarias respectivamente. Ambas pruebas fueron desarrolladas utilizando como modelo biológico huevos y larvas premetamórficas del anfibio anuro *C. caudiverbera*.

Las dosis de F<sup>-</sup> utilizadas fueron: 1 ppm; 2 ppm; 20 ppm y 200 ppm. La metodología utilizada se basó en los trabajos de Gavilán et al. (1) y Venegas et al. (2).

En el test de micronúcleos, el análisis estadístico muestra que existe una relación dosis-respuesta significativa en las dosis elevadas de F<sup>-</sup> empleadas, encontrándose también un efecto teratogénico en esas dosis.

Ambos resultados se discuten ampliamente y se advierte sobre el peligro potencial de uso humano indiscriminado y sin control del fluor.

FIJACION DE CO<sub>2</sub> EN *Thiobacillus ferrooxidans*. (CO<sub>2</sub> fixation in *Thiobacillus ferrooxidans*). Herrera, L. y Holuigue, L. Dpto. Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

*Thiobacillus ferrooxidans* es uno de los principales microorganismos que participan en la lixiviación bacteriana de minerales. Esta bacteria autótrofa realiza fijación de CO<sub>2</sub> a través del ciclo de Calvin. La etapa clave de este ciclo es la primera reacción catalizada por la ribulosa biscofosfato carboxilasa (RuBisCO). Esta enzima es una proteína muy abundante en plantas, algas y bacterias fotosintéticas. En *T. ferrooxidans* esta proteína constituye entre un 2 y 4% de la proteína total.

Se ha postulado que uno de los factores que puede limitar el crecimiento de *T. ferrooxidans* en las pilas de lixiviación es la disponibilidad de CO<sub>2</sub> atmosférico. Nuestros estudios realizados con cultivos de *T. ferrooxidans* suplementados con aire normal (0,03% CO<sub>2</sub>) o aire enriquecido en CO<sub>2</sub> (0,06 O<sub>2</sub>; 0,35%), muestran que al aumentar la concentración de CO<sub>2</sub>, aumenta la velocidad de crecimiento, así como la actividad específica de RuBisCO en extractos provenientes de estos cultivos. Por otra parte, resultados preliminares indican que la concentración de RuBisCO es mayor en células crecidas bajo concentraciones de CO<sub>2</sub> mayores.

Estos resultados indican que el CO<sub>2</sub> podría estar actuando como un inductor de la síntesis de RuBisCO. Para corroborar esta hipótesis, intentaremos detectar los niveles de mRNA para esta proteína, para lo cual disponemos de dos sondas que contienen los genes de RuBisCO de *Anacystis nidulans* y *Chromatium vinosum*.

ACTIVIDAD REPRODUCTIVA ANUAL DEL GATO DOMESTICO MACHO. (Annual reproductive activity of the male domestic cat). Heyn, R., Rojas, M.A. y Flores, E. Depto. Morfología Exp. Facultad de Medicina Norte y Depto. Cs. Clínicas, Fac. Cs. Veterinarias. U. de Chile.

El gato *Felis catus* es una de las especies domésticas más comunes en el mundo, sin embargo, es contradictoria la información que se tiene sobre su actividad gonadal tanto desde el punto de vista biológico como clínico.

Nuestro objetivo fue caracterizar la actividad testicular y endocrina anual del gato doméstico.

Se realizó gonadectomía bilateral a un promedio de 7 gatos por mes y se extrajo sangre para determinar concentraciones plasmáticas durante un año. Los testículos fueron procesados para técnica histológica corriente. Se consideró peso testicular, índice gonadosomático, diámetro tubular, altura del epitelio seminífero, concentraciones plasmáticas de testosterona, índice espermatogénico e intersticial.

No se observaron diferencias significativas en las variables analizadas. Los promedios obtenidos para peso testicular, índice gonadosomático, diámetro tubular, altura del epitelio seminífero, índice espermatogénico e intersticial muestran tendencias que van en aumento en el período comprendido entre Junio y Diciembre, se mantienen altas hasta Marzo y luego descienden gradualmente a valores mínimos en Mayo.

El índice celular intersticial y niveles plasmáticos de Testosterona presentan valores homogéneos a lo largo del año.

Estos resultados nos permiten sugerir que el gato macho doméstico presenta una actividad gonadal continua a lo largo del año.

CARACTERIZACION IDIOTIPICA DE UN ANTICUERPO MONOCLONAL ESPECIFICO DE ACROSINA HUMANA (Idiotypic characterization of a monoclonal antibody specific for human acrosin).

Hinrichsen, P. Lab. Inmunología. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile.

Existe evidencia de que la respuesta inmune frente a un antígeno (Ag) está regulada por una "red idiotipo (ID) - anti-ID", de acuerdo a la teoría de Jerne. En varios modelos ha sido posible reemplazar el Ag original por un anticuerpo anti-ID que corresponde a la imagen interna del Ag.

El anticuerpo monoclonal (mAb) Acr-C2E5, dirigido contra acrosina espermatocítica humana, es capaz de inhibir la actividad de esta serin-proteasa frente a sustratos de alto peso molecular, así como de interferir en la unión de los espermatozoides con la zona pelúcida, su sustrato natural.

Con el propósito de inducir la síntesis de Ab anti-ID que representen la imagen interna de la acrosina, se inmunizaron conejos con el mAb Acr-C2E5 purificado por fraccionamiento con Ac. caprífico desde líquido ascítico de ratón híbrido CB10F1.

Las especificidades anti-ID fueron separadas de los Ab anti-isotipo por medio de dos cromatografías de afinidad: primero Sepharose-C2E5 y luego Sepharose-B4F6. Los mAb Acr-C2E5 y Acr-B4F6 sólo difieren en su idiotipo y comparten el mismo isotipo, k $\mu$ . El título de los anti-ID se determinó por su capacidad de inhibir la reacción del mAb C2E5 con el acrosoma de espermios humanos, por inmunofluorescencia indirecta.

Así también, se demostró por ELISA la presencia de Abs con afinidad por Acr-C2E5 y no por Acr-B4F6. Además, estos Abs tampoco tenían afinidad por Inmunoglobulinas naturales de CB10F1, que contienen las regiones de marco de Acr-C2E5. Por otra parte, un extracto de acrosina es capaz de bloquear levemente la interacción del mAb con su anti-ID. Finalmente, en un experimento que está en curso, se inmunizó un ratón con el anti-ID. La presencia de Abs anti-acrosina en su suero sería una prueba concluyente para decir que el anti-ID corresponde a la imagen interna del Ag.

Financiado por Grant IDRC 3-P-86-1018-02.

INFLUENCIA DE FACTORES AMBIENTALES EN LA REGULACION DE LA FERTILIDAD EN *Glossophora kunthii* (PHAEOPHYCEAE). Influence of environmental factors in the control of fertility in *Glossophora kunthii* (Phaeophyceae). Hoffmann, A. J. y Malbrán, M.E. Depto. de Biología Ambiental y de Poblaciones, Fac. de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

*Glossophora kunthii* (Dictyotales) se encuentra, en Sudamérica, en Perú y Chile. En Las Cruces (33° 15'S) presenta variaciones estacionales de fertilidad, sugiriendo control por factores ambientales. Se determinó la formación de esporangios en lígulas de plantas recolectadas en terreno y se estudió la influencia del fotoperíodo y la temperatura sobre la diferenciación de esporangios en condiciones controladas; se relacionaron los hallazgos con fluctuaciones de fotoperíodo y temperatura del agua en el sitio de estudio. Lígulas juveniles fueron sometidas a distintas condiciones de fotoperíodo y temperatura. En las lígulas hubo desarrollo de esporangios entre marzo y noviembre, con valores máximos de fertilidad en invierno. Durante el período de fertilidad, 11% de las lígulas formaron esporangios en oscuridad completa; 65 a 80% con 4 a 8 h de luz; 14-18% con 9 a 18 h de luz y no hubo formación de esporangios con más de 20 h de luz. La formación de tetrasporangios fue nula a 5°, escasa a 10° y máxima a 20°C. En la localidad de estudio, el fotoperíodo y la temperatura apropiados no coinciden: el fotoperíodo más adecuado ocurre en invierno (julio-agosto) y la temperatura más conveniente en verano (diciembre-enero). El fotoperíodo sería el factor que más influye en el período de fertilidad de la especie.

DIUC 97/87; FONDECYT 718/87.

**RESISTENCIA A LA FATIGA Y LIPASA LIPOPROTEICA EN MUSCULO ESQUELETICO RAPIDO** (Lipoprotein li - pase and endurance in fast skeletal muscle). Hoppe A., Barahona J. Depto. Neurología y Neu - rocirugía y Laboratorio de Neurofisiología, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: BU. Ramírez).

La Lipasa Lipoproteica (LPL) es la enzima que inicia la degradación de los triglicéridos a ácidos grasos libres. En el músculo esquelético los ácidos grasos se pueden usar como fuente energética del metabolismo oxidativo. Se acepta que la resistencia a la fatiga de un músculo depende principalmente de la vía metabólica utilizada para derivar la energía, siendo más resistentes a la fatiga los músculos oxidativos. Nosotros estudiamos si existe una relación entre la actividad de la LPL y la resistencia a la fatiga en músculo esquelético rápido de la rata.

Ratas adultas se trataron con una dosis única de 2,4-D (200 mg/kg) para hacer el músculo más fatigable. A las 24 horas de tratamiento se midió en tibial anterior o extensor largo de los dedos la resistencia a la fatiga y la actividad de la LPL.

La resistencia a la fatiga disminuyó significativamente después del tratamiento con 2,4-D. La actividad de la LPL se mantuvo igual al control.

Nuestros resultados sugieren que la actividad de la LPL no es un factor determinante de la resistencia a la fatiga del músculo rápido en este modelo experimental.

Financiado por DIUC y PG 505-86 Facultad de Medicina U.C.

**EL ASTER RETINIANO, UNA ESPECIALIZACION DE LA CAPA NUCLEAR INTERNA.** (The Retinal Aster a Specialization of the Inner Nuclear Layer). Inzunza, O.; Smith, R. L. Departamento de Anatomía, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile y Departamento de Morfología, Escuela Paulista de Medicina.

La retina de vertebrados presenta especializaciones regionales como el área nasal, el área temporal y la banda horizontal con una alta densidad de elementos celulares a nivel de la capa de receptores y de células ganglionares.

Utilizando el método de montaje de retinas completas teñidas con técnica de nissl en aves monofoveadas (tijuque, buitre, búho y lechuza) y bifoveadas (águila, halcón), describimos un arreglo topográfico peculiar, el aster. Al enfocar las preparaciones en el nivel de la capa nuclear interna, se detectó en todos los casos esta estructura, cuyo centro coincide con el centro de la fovea. En las especies bifoveadas se observó un aster en relación con cada una de las foveas nasal y temporal, siendo más evidente aquél asociado a la fovea nasal. Los rayos de esta estructura se extienden desde el centro de la fovea en todas direcciones en una disposición regular.

Las secciones transversales de la retina incluidas en araldit muestran que esta especialización retiniana se forma por la disposición columnar de las células bipolares oblicuamente dispuestas en torno a la fovea, las que aparecen separadas por bandas de fibras nerviosas de la capa nuclear interna.

Financiado por Proyecto DIUC 107/87

**FOSFOLIPASA C-ESPECIFICA PARA FOSFATIDILINOSITOL SOLUBILIZA FORMAS DIMERICAS DE ACETILCOLINESTERASA DE MUSCULOS DE XENOPUS Y MEDULA ADRENAL DE BOVINO.** (Phosphatidylinositol-specific phospholipase C solubilize dimeric forms of acetylcholinesterase from *Xenopus*'s muscles and bovine adrenal medulla). Inestrosa, N.C., Prieto, A., Fuentes, M.E., Arqueros, L., Fadic, R. y Silman, I. Unidad de Neurobiología Molecular, Lab. de Neurofisiología; Lab. de Farmacología Bioquímica, Depto. Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile y Dept. Neurobiology, Weizmann Institute of Science, Israel.

Desde hace varios años se sabe que las proteínas de membrana se unen a ésta por medio de secuencias de aminoácidos hidrofóbicos. Recientemente se ha descrito, sin embargo, proteínas de membrana que pueden ser solubilizadas por fosfolipasas C, específicas para fosfatidilinositol (PIPLC), lo que sugiere la presencia de dominios lipídicos en el anclaje a la membrana plasmática. Entre estas proteínas se encuentran las glicoproteínas de la superficie del *Tripanosoma brucei*, las N-CAM, 5'-nucleotidasa y acetilcolinesterasa (AChE) de órgano eléctrico de *Torpedo* y glóbulos rojos varios.

En este trabajo se muestra por primera vez, la solubilización de AChE dimérica desde homogenizados de músculos esqueléticos de *Xenopus laevis*, utilizando la PIPLC purificada de *S. aureus*. Se presenta también evidencia que una parte importante de la AChE de médula adrenal de bovino, corresponde a una forma dimérica (G.) de la AChE capaz de ser solubilizada por PIPLC. Estudios de fraccionamiento celular indican que la AChE sensible a fosfolipasa C se ubica en membranas plasmáticas.

Financiado por FONDECYT 706/87, DIUC 77/86 y Muscular Dystrophy of America.

**CANALES DE CALCIO EN RETICULO SARCOPLASMATICO DE RANA** (Calcium channels from frog sarcoplasmic reticulum). Irribarra, V., Suárez, B., Oberhauser, A., Bull, R., Larraide, L., Hidalgo, C., Jaimevich, E. Depto. Fisiología y Biofísica, Fac. de Medicina, U. de Chile y Centro de Estudios Científicos de Santiago.

Para esclarecer los mecanismos de liberación de calcio desde el retículo sarcoplasmático (RS) en músculo esquelético, se caracterizaron canales iónicos en vesículas purificadas de RS de músculo esquelético de rana fusionadas con bicapas planas. Se observó la presencia de canales selectivos a calcio y bario de alta y baja conductancia (112 y 40 pS) en 50 mM Ba HEPES o Ca HEPES (trans).

El canal de 112 pS muestra períodos silentes y otros de gran actividad. En registros de 240-300 s, la probabilidad de apertura (Po) es independiente del potencial aplicado. Sin embargo, Po tiene fuerte dependencia de  $[Ca^{2+}]_{cis}$ , aumentando de 0.02 en 10  $\mu$ M a 0.77 en 150  $\mu$ M  $Ca^{2+}$ . ATP (1mM, cis) aumenta Po a 0.94. Magnesio (2 mM) cis disminuye levemente Po y aumenta la frecuencia de transiciones breves pero  $La^{3+}$  (0.5 mM) bloquea el canal.

Inositol (1,4,5)-trisfosfato ( $InsP_3$ ) activó al canal aumentando Po sin alterar la conductancia. En bicapas cargadas (POPE:PS=1:1) 10  $\mu$ M  $InsP_3$  llevó Po desde  $0.10 \pm 0.01$  a  $0.18 \pm 0.02$  ( $\bar{x} \pm$  ESM) ( $p < 0.01$ ) y 50  $\mu$ M  $InsP_3$  a 0.85. En bicapas neutras (POPE:PC=4:1) 13.4  $\mu$ M  $InsP_3$  aumentó Po desde 0.01 a 0.75. El canal de 40 pS no mostró sensibilidad a los agonistas estudiados.

Estos estudios demuestran la presencia de canales selectivos a  $Ca^{2+}$  (y  $Ba^{2+}$ ) en RS que son activados por  $InsP_3$ .

Financiado por NIH GM 35981, MDA, FONDECYT (N° 598 y 1340) y DIB 2123. Patrocinio: B. Suárez

ESTUDIO PRELIMINAR DE LA FLORA RUMINAL DE CAPRINOS EN CONDICIONES NATURALES. SISTEMA DE OBTENCION DE MUESTRAS EN TERRENO Y SU TRANSPORTE. (Preliminary study of rumen microorganisms of goats in natural conditions. Field sampling system and sample transport). Isac, M.D y Cabrera, R. Laboratorio de Fermentación Ruminal, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, U. de Chile.

El estudio de poblaciones microbiales ruminales de animales en condiciones naturales es difícil de realizar especialmente por la mantención de la viabilidad de las muestras durante el transporte al laboratorio y hasta su ulterior siembra. En el presente trabajo se ensayaron y se leccionaron metodologías para este propósito. Muestras de contenido ruminal de caprinos fistulados fueron submuestreadas y sembradas en un medio completo (98-5) empleando la técnica de anaerobiosis en rolled tube de Hungate, ya sea en forma inmediata o 24 horas después de haber sido mantenida a temperatura ambiente, o refrigerada, o congelada, o en hielo seco. Todas las muestras fueron incubadas a 37°C durante 5 días para el recuento de colonias. El método que dió una mejor recuperación fue el del hielo seco con un 86.36% del control. Este sistema se empleó en muestras de caprinos en condiciones de pastoreo libre en praderas reforzadas con *Atriplex* en la IV Región. Estas fueron transferidas a viales mantenidos en hielo seco y bajo una atmósfera de CO<sub>2</sub>, congeladas instantáneamente y transportadas al laboratorio en Santiago en cajas con hielo seco cuyos materiales aislantes y diseño fue estudiado previamente, sembrándose en medios completos (98-5 y CC) y en medios diferenciales con pectina, almidón o celulosa como única fuente de carbono. Los recuentos de colonias fluctuaron entre los 24,85 y 45.36 x 10<sup>6</sup> por gr de contenido ruminal para las poblaciones microbiales totales. Un 91.46-97.67%, un 60.56-93.36% y un 80.72-89.64% de estos creció en pectina, almidón y celulosa respectivamente. Se concluye que el método descrito es una buena herramienta para el estudio de poblaciones microbiales de animales en condiciones naturales. (Proyectos Fondecyt 5016 - DIB 17324587).

PARTICIPACION DE BARORRECEPTORES Y QUIMIORRECEPTORES CAROTIDEOS EN LAS RESPUESTAS VENTILATORIAS Y CARDIOVASCULARES A LA OCCLUSION CAROTIDEA. (Contribution of carotid baro- and chemoreceptors to the ventilatory and cardiovascular responses evoked by carotid occlusion). Iturriaga, R. y Zapata, P. Laboratorio de Neurobiología, Universidad Católica de Chile.

Se estudió los reflejos ventilatorios y cardiovasculares evocados por oclusiones de las carótidas comunes en 16 gatos anestesiados con pentobarbitona sódica (40 mg/kg i.p.) y que respiraban espontáneamente.

Las oclusiones unilaterales provocaron caída de la presión intrasinusal (Ps) a 50-100 torr, alza de la presión arterial a 111% de la basal, sin cambios ventilatorios. Las oclusiones bilaterales produjeron caídas de la Ps a 15-60 torr, hipertensión (138%), taquicardia e hiperventilación pulmonar y alveolar. El aumento ventilatorio máximo coincidió con la mínima Ps y se atenuó al recuperarse ésta. La magnitud de la respuesta ventilatoria se correlacionó en forma exponencial e inversa con la Ps. La hiperventilación se debió a aumentos del volumen corriente más que de la frecuencia, alcanzando el volumen minuto ciclo a ciclo a 145% del basal. La ventilación con O<sub>2</sub> 100% redujo y retrasó la respuesta ventilatoria. La barodenervección sinusal redujo la respuesta presora, sin modificar la respuesta ventilatoria. En esta condición la hiperoxia redujo la respuesta ventilatoria y suprimió la respuesta presora refleja remanente. Las respuestas anteriores se observaron también en animales vagotomizados. La sección de ambos nervios carotídeos eliminó las respuestas reflejas cardiovasculares y ventilatorias a las oclusiones.

Los resultados obtenidos indican que la excitación quimiosensorial carotídea contribuye principalmente a desencadenar la respuesta ventilatoria a la oclusión carotídea, mientras la desactivación barosensorial desencadena principalmente la respuesta cardiovascular a dicha maniobra.

Financiamiento: DIUC, FONDECYT y Fund. Gildemeister.

INACTIVACION DE LA DESCARBOXILASA DIFOSFOMEVALONICA POR TIONUCLEOTIDOS (Inactivation of mevalonate-5-diphosphate decarboxylase by thionucleotides). Jabalquinto, A.M.

Departamento de Química, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile.

Los tionucleótidos son análogos de los nucleótidos en los cuales uno de los oxígenos no puente de un grupo fosforilo se ha reemplazado por un átomo de azufre. Si este reemplazo se efectúa en el fosforilo  $\alpha$  o  $\beta$  del ATP se produce quiralidad en el fósforo y se da origen a un par de diastereoisómeros.

Durante el curso de estudios con los isómeros del ATPBS como sustratos de la descarboxilasa difosfomevalónica encontramos evidencia de inactivación de la enzima por estos análogos.

Los experimentos de inactivación de la enzima por los diferentes tionucleótidos indicaron que el mejor inactivador es el (Rp)ATPBS y el peor es el ATPYS. En una condición intermedia se encontraron el (Sp)ATPBS, el ADPBS y el AMPs.

La protección de la inactivación ejercida por los sustratos sugiere que el grupo reactivo está en o cerca del sitio activo. A la vez, la protección ejercida por el DTT podría indicar que el tionucleótido estuviera interactuando con grupos sulfhidrilos del sitio activo de la enzima. Se discuten dos mecanismos posibles para la inactivación de la enzima por los tionucleótidos.

Financiado por DICYT, USACH, FONDECYT y por TWAS RG 42-CHL-14.

CARACTERIZACION Y LOCALIZACION SUBCELULAR DE LA ARGINASA DE HIGADO DE MERLUCCIIUS GAYI GAYI (MERLUZA). (Characterization and subcellular location of arginase from *Merluccius gayi gayi* liver). Jerez, D. y Garcés, E. Depto. Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

La arginasa, cataliza la hidrólisis de arginina en ornitina y urea. Sin embargo, esta enzima no es exclusiva de especies ureotéticas, sino que está ampliamente distribuida en el reino animal. Con el objeto de establecer si existe una correlación entre algunas propiedades de la enzima y algún rol biológico particular, se purificó parcialmente una arginasa de Hígado de merluza, un pez teleosteo amonitelico y se estudiaron sus propiedades cinéticas y localización subcelular. La preparación enzimática fue obtenida de un homogenizado de hígado, al que se calentó a 60°C en presencia de ornitina y se sometió a fraccionamiento con (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0-70%). Esta preparación enzimática presenta un pH óptimo de 9,5 y un Km a pH 7,5 de 10 mM para arginina. Además es mucho más inhibida por leucina e isoleucina que por prolina. La enzima presenta un PM de 64000 y es activada significativamente sólo por Mn<sup>2+</sup>.

El fraccionamiento subcelular reveló que la enzima se encuentra localizada exclusivamente en la mitocondria del hígado de *Merluccius gayi gayi*. En base a esta distribución y al efecto de estos aminoácidos sobre esta enzima, se sugiere que la función de la arginasa en el hígado de esta especie es aportar la ornitina necesaria para la síntesis de prolina o bien formar a partir de ornitina,  $\alpha$ -caoglutarato el que podría ser utilizado como fuente de energía.

Proyecto DIC N° 20.31.19. Universidad de Concepción.

EFFECTO DEL ALMACENAJE Y DEL AÑO DE COSECHA SOBRE LA GERMINACION DE ALGUNAS ESPECIES DE LA PRADERA NATURAL MEDJ TERRANEA (Effect of storage and harvest time on germination of some species of mediterranean natural prairies). Johnston, M.; Olivares, A.; Fernández, G. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile.

Las semillas se cosecharon en la sección secano de la Est. Exp. Agron. de Maipú en 1985 y 1986 y se realizaron tests de germinación a 15°C, con 5 repeticiones de 20 semillas cada una en cápsulas Petri con papel filtro y agua. Las semillas que mostraban dormancia se pincharon al centro del endosperma. Las semillas cosechadas el 85 se probaron nuevamente al año siguiente. También se analizó la condición de las semillas que no germinaron en cada ensayo y se realizó un test de tetrazolio.

El almacenaje redujo la capacidad germinativa en Avena, Medicago y Vulpia, se mantuvo en Hordeum y aumentó en Trisetobromus y Erodium, por lo tanto, este último mostró una reducción en su grado de dormancia; sin embargo habría una pérdida de viabilidad de un 30%; algo similar se obtuvo con Medicago aunque en menor grado. La capacidad germinativa varía también con el año de cosecha; en Erodium hay un notable aumento en la cosecha 86 (64% más reduciéndose la dormancia al mínimo. El factor ambiental que más varió de un año a otro fue la precipitación total: 218,8 en 1985 y 366 en 1986, insinuándose como causal de este cambio de comportamiento. También Avena mostró cierto aumento y Hordeum una pequeña reducción, tanto en las capacidades germinativas como en los índices de germinación. El análisis de las semillas que no germinaron en cada cosecha señala que Avena presenta un alto porcentaje de semillas vanas igual que el H. perenne de la cosecha más temprana, el resto tiene problemas de viabilidad excepto Erodium que exhibe aún cierta dormancia a juzgar por la respuesta al test de tetrazolio.

Proyecto financiado por Dir. Invest. y Bibl., U.de Chile

PRODUCCION DE BROTES MULTIPLES *IN VITRO* EN PECIOLOS E HIPOCOTILOS DE *ANNONA CHERIMOLA* (*In vitro* multiple shoot formation from petiole and hypocotyl explants of *Annona cherimola*). M. Jordán, Laboratorio de Botánica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago.

*Annona cherimola* es una especie frutal de grandes potencialidades económicas debido a su creciente interés en mercados internacionales.

En Chile, plantaciones de diferentes cultivos, multiplicados mayormente por semillas presentan grandes diferencias de productividad, en especial; frutos muestran diversidad en tamaño, forma, madurez y de conservación en post-cosecha. Programas vinculados con la reproducción masiva de plantas elite con características de producción deseables pueden ser factibles a mediano plazo si se optimizan sistemas de micropropagación clonal en gran escala, métodos que no han sido estudiados en esta especie.

En el presente trabajo se muestran respuestas regenerativas y potencialidades morfogénicas inducibles *in vitro* a partir de secciones de hipocotilos y peciolo de chirimoya mediante control hormonal.

Financiamiento DIUC 85-86. Fondecyt Proyecto 0758/87.-

GRADIENTE DE DIFERENCIACION DE CELULAS PARIETALES DURANTE LA ONTOGENIA, EN RELACION A LA ZONACION DEL ESTOMAGO. (Differentiation gradient of parietal cells during ontogeny, in relation to stomach zonation). Koenig, C., Munizaga, A., Belmar, M. y Dabiké, M. Depto. Biología Celular, Facultad Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Las glándulas gástricas se forman a partir de brotes del epitelio de revestimiento, identificándose células parietales a partir del día 20 prenatal. La diferenciación de la célula adulta se relaciona con la expresión de: mitocondrias ricas en citocromo-oxidasa, sistema de membranas con K-NPPasa y citoesqueleto de filamentos intermedios (FI) de distribución específica. Estos marcadores permitirían establecer la maduración de las células parietales. Se ha sugerido que la diferenciación de las glándulas gástricas dependería de su posición en el estómago.

Se analizaron mucosas gástricas de rata entre 17 días prenatal y 30 días postnatal. Se estudiaron cortes longitudinales de curvatura mayor y menor y cortes transversales de región cardial a pilórica. Se cuantificó la actividad de citocromo-oxidasa y K-NPPasa, y se analizó su localización histoquímica en cortes de tejido. La distribución de FI se determinó por inmunofluorescencia. Se analizó al M.E. la ultraestructura de las glándulas características de cada zona.

Se demuestra una clara relación entre el estado de diferenciación de las células parietales en glándulas gástricas de diferentes regiones del estómago. La formación de brotes glandulares se inicia en la región pilórica en el feto de 18 días. A los 22 días de vida fetal las glándulas más desarrolladas, ricas en células parietales, se ubican en la curvatura menor y zona adyacente al píloro. El menor desarrollo lo presentan los brotes glandulares de la curvatura mayor vecinos al cardias. El patrón de diferenciación de cada una de estas zonas es característico.

ANTICUERPO CONTRA SUBUNIDAD 200 kDa DE LOS NEUROFILAMENTOS REACCIONA CON LA PROTEINA ASOCIADA A MICROTUBULOS 2 (MAP 2). (Anti-200 kDa neurofilament antibody cross-reacts with microtubule-associated protein 2 (MAP 2)). Krauss, R., Tremblay, C. and Allende, M. Unidad de Neurobiología Molecular, Depto. Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile, Santiago. (Patrocinio: I.Llonca).

Los neurofilamentos (NFs) pertenecen a la familia de los filamentos intermedios y constituyen el citoesqueleto neuronal. Están compuestos por tres polipéptidos cuyos pesos moleculares son 200, 150 y 70 kDa respectivamente. De éstos, la subunidad de 200 kDa, está presente principalmente en axones y parece ser un buen indicador del desarrollo axonal.

Para estudiar la expresión temprana de los NFs se preparó un anticuerpo policlonal contra NF 200 de médula espinal de bovino. La especificidad del anticuerpo se analizó en experimentos de Western blotting y ELISA, observándose que reacciona con las subunidades de 200 y 150 kDa y presenta reacción cruzada con un polipéptido de alto peso molecular presente en extractos de citoesqueleto de cerebro de rata en desarrollo. Se encontró que este polipéptido estaba presente en preparaciones enriquecidas de microtúbulos y, finalmente, fue reconocido específicamente como la proteína asociada a microtúbulos 2 (MAP 2) de 280 kDa.

Estos resultados, además de sugerir la existencia de epitopes comunes entre la subunidad pesada de los NFs y MAP 2, abren la posibilidad que, si existe alguna interacción entre NFs y microtúbulos, ésta podría ocurrir entre la subunidad de 200 kDa y MAP 2.

Financiado por DIUC 90/87 y Stiftung Volkswagenwerk a J. ALVAREZ Y N.C. INESTROSA.

**SISTEMA MICROSOMAL DE OXIDACION DE ETANOL (MEOS): ROL METABOLICO, MECANISMOS DE ACCION Y PERSPECTIVAS.** (Microsomal Ethanol Oxidizing System (MEOS): Metabolic Role, Mechanisms of Action and Perspectives). Kriz, A.

Unidad de Bioquímica, Facultad de Medicina, División Occidente, Universidad de Chile.

Es un hecho aceptado que el hígado es el principal órgano que se ocupa de metabolizar el etanol, lo cual se atribuye a la presencia de Alcohol Deshidrogenasa, Catalasa y MEOS. Nuestro interés se concentra en el MEOS por ser éste el único que presenta un incremento adaptativo después de la ingesta crónica de etanol y características compatibles con el cumplimiento de un rol significativo en condiciones fisiológicas ( $\text{pH } 6\text{pt.} \approx 7,4$ ;  $K_m$  7-11  $\text{mM}$  y  $V_{\text{máx}}$  a concentraciones de etanol  $\gg 30$   $\text{mM}$ ).

Varios estudios indican que la actividad MEOS se debe al menos en parte a los radicales libres  $\text{HO}^\bullet$  generados durante la oxidación microsomal del NADPH y capaces de oxidar el etanol a acetaldehído (vía dependiente de la NADPH - cit P450 Reductasa). Tal hipótesis involucra al proceso de reducción monovalente del  $\text{O}_2$  como principal productor de especies del tipo  $\text{HO}^\bullet$ ,  $\text{O}_2^-$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Para determinar experimentalmente la actividad MEOS hemos utilizado microsomas hepáticos de ratas macho Wistar normales obtenidos por centrifugación diferencial. Nuestros resultados apoyan la mencionada hipótesis, ya que los flavonoides cianidanol-3 y silibina (que actúan como atrapadores de radicales libres) en efecto inhiben la actividad del sistema. Sin embargo, la inhibición no es total, lo que sugiere la participación de una vía no radicalaria dependiente de citocromo P450 y de NADPH - cit P450 Reductasa.

(Financiado por DPI B-1860 y FONDECYT 8/1987).

**SECRECIÓN DE INSULINA EN PANCREAS DE ANFIBIOS IN VITRO.** (Insulin secretion in amphibian pancreas in vitro). Kukuljan, M., Pielmien, J., y Atwater, J. Departamento de Fisiología y Biotécnica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; Departamento de Fisiología Normal y Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso y Laboratory of Cell Biology and Genetics, NIDDK, Bethesda, Maryland, U.S.A. (Patrocinio: E. Jaimovich.)

El desarrollo de modelos fisiológicos en tejidos de anfibios presenta como ventaja la facilidad de mantención de células en cultivo y de combinación de técnicas que implican manipulación intracelular. Una aplicación posible es el estudio de la secreción de insulina.

Se diseccionó páncreas de *Caudiverbera caudiverbera* y *Bufo chilensis*, adultos. Cada páncreas se incubó en 1 ml de solución basal ( $\text{NaCl } 115 \text{ mM}$ ,  $\text{KCl } 2 \text{ mM}$ ,  $\text{CaCl}_2$  2,5 mM, HEPES 10 mM, glucosa 2mM, seroalbúmina bovina 0,5 gr.%, pH 7,4). El medio se renovó cada 5 minutos. Las muestras se congelaron hasta la determinación de insulina, mediante RIA, usando anticuerpo de cobayo anti-insulina porcina.

Se cuantificó secreción basal de aproximadamente 10 pgr. de insulina/páncreas.minuto. La aplicación de glucosa 20 mM mas cafeína 10 mM o acetilcolina 100  $\mu\text{M}$  estimuló la secreción con un patrón de respuesta lenta bifásica, apareciendo el segundo pico en el periodo basal post-estímulo.

Paralelamente se cultivo células de páncreas de *C. caudiverbera* disgregadas con collagenasa, en medio Dulbecco modificado. Desde el tercer día de cultivo se observó reagrupación celular en estructuras morfológicamente similares a islotes de Langerhans. Esta arquitectura y la viabilidad celular se mantuvieron hasta el día 25 de cultivo primario. El RIA del medio recambiado mostró secreción de insulina durante todo el periodo de cultivo.

El tejido pancreático de anfibios mantiene la capacidad de secreción de insulina in vitro, en el órgano completo y en cultivo primario, apareciendo como modelo útil de estudio de regulación de secreción hormonal.

**HIBRIDOS ENTRE DOS RAZAS CROMOSOMICAS DE *L. monticola monticola*** (Iguanidae). (Hybrids between two chromosomal races in *L. monticola monticola* (Iguanidae)). M. Lambrot, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Zonas de hibridación se encuentran en una gran variedad de organismos, pudiendo involucrar numerosos caracteres. El presente trabajo entrega información de una zona de hibridación detectada en el Cajón del Maipo entre dos razas cromosómicas de *Liolacmus monticola monticola*: Raza Sur con número cromosómico diploide  $2n = 34$  (12 macrocromosomas (M)) y 22 microcromosomas (m), y Raza Norte con  $2n = 38$  a 40 (16, 17 ó 18 M + 22 m). Ambas razas están separadas por una barrera natural formada por el Río Maipo y el Río Yeso.

Los cromosomas se obtienen a partir de suspensiones celulares de gónadas, médula y bazo de individuos inyectados con colchicina y método corriente de centrifugación, hipotonía, fijación, goteo y tinción Giemsa.

Los resultados y análisis de placas metafásicas somáticas y meióticas permiten detectar fácilmente los híbridos en un estrecho cinturón de hibridación.

Se discute el origen de un posible contacto secundario de hibridación y las anomalías meióticas de los híbridos.

Financia Proyecto FONDECYT 496-87 y DIB, Universidad de Chile N° 2007/8744.

**ORDENAMIENTO ESPACIAL Y DENSIDAD ESTACIONAL DE *Diplodon chilensis chilensis*** (Gray, 1828) EN SUSTRATOS DE ARENA Y FANGO. LAGO VILLARRICA. (Seasonal spatial distribution and density of *Diplodon chilensis chilensis* (Gray, 1828) in sand and mud substrates. Villarrica Lake).

Lara, G.; Quiroz, H. Castillo y C. Urrutia.

Depto. de Ciencias Naturales-Biología. Pontificia Universidad Católica de Chile-Temuco. Casilla 15-D Temuco. (Patrocinio: S.L. Peredo).

Con el fin de determinar estacionalmente el ordenamiento espacial y densidad de *Diplodon chilensis chilensis* (Gray, 1828) en sustratos de arena y fango del sector La Poza-Lago Villarrica, durante el período agosto 1986-abril 1987 se extrajeron muestras de especímenes y de sustrato mediante buceo autónomo. Los resultados obtenidos señalan que existen diferencias significativas entre las densidades de almejas que habitan sustratos de arena con respecto a las de fango, siendo mayor la abundancia en sustratos fangosos. Estacionalmente la densidad no varía en sustratos de arena, en cambio en sustratos fangosos se producen variaciones significativas. El ordenamiento espacial en el transcurso del año es agregado en ambos ambientes con excepción de lo sucedido en época de otoño en arena donde el ordenamiento no varía significativamente desde una distribución al azar. Estos resultados se relacionan con los hábitos reproductivos de *Diplodon chilensis chilensis*.

Financiado por Proyecto 2.86.1. Comisión de Investigación. Pontificia Universidad Católica de Chile - Sede Regional Temuco.

EFFECTO DEL pH EN LA ACTIVACION DEL CANAL DE K DEPENDIENTE DE CALCIO DE MUSCULO ESQUELETICO DE RATA INCORPORADO EN BICAPAS ARTIFICIALES DE FOSFOLIPIDOS. (Effect of pH in the activation of the Ca-activated K channel from rat skeletal muscle incorporated into planar lipid bilayers).

Laurido, C.,\* Latorre, R.\*\* y Wolff, D.\*\*

\* Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Ciencia, Depto. de Química. \*\* Universidad de Chile, Facultad de Ciencias, Depto. de Biología. + Centro de Estudios Científicos de Santiago.

Hemos estudiado el efecto del pH en el canal de potasio activado por calcio de músculo esquelético de rata incorporado en bicapas de fosfolípidos. La actividad de este canal es dependiente de la  $[Ca^{2+}]$  intracelular y de la diferencia de potencial eléctrico. Resultados preliminares muestran que la acidificación del lado intracelular del canal resulta en una disminución de la fracción del tiempo que este permanece en el estado abierto (Po) a un determinado potencial y concentración de calcio. Al graficar Po en función del potencial aplicado, a una  $[Ca^{2+}]$  de 100  $\mu M$ , se observa que al bajar el pH intracelular de 7,0 a 5,0 (pH extracelular 7,0) el potencial al cual Po es 0,5 (Vo), varía de 0 mV a +45 mV. Este desplazamiento de Vo sugiere una estabilización de la configuración cerrada del canal inducida por la disminución del pH. Los tiempos promedio abiertos disminuyen 4 veces en relación al control, en cambio, los tiempos promedio cerrados aumentan solo dos veces. Lo anterior sugiere que el efecto del pH en este canal se manifiesta principalmente en una modificación de los tiempos promedio abiertos. Esto debido probablemente a una competencia entre el calcio y los protones por los sitios de ligamen de calcio de la proteína-canal. Financiado por DIB, Proyecto B-1985 y Fundación Tinker.

#### CAMBIO BIOQUÍMICO-FUNCIONALES POR SIALOENECTOMIA PREGESTACIONAL EN GLÁNDULA MAMARIA DE RATA EN LACTANCIA.

(Biochemical and functional changes after pregestational sialoadenectomy in lactating rat mammary gland).

Lavadero, S. y Sapag-Hagar, M. Depto. de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La sialoadenectomía pregestacional disminuye el crecimiento y galactopoyesis mamarios en el ratón indicando que el factor de crecimiento epidérmico (EGF) participaría en el crecimiento, diferenciación y función de la glándula mamaria.

En este trabajo se evaluó el papel "in vivo" del EGF en el proceso lactogénico de la rata estudiando el efecto de la deficiencia en EGF por sialoadenectomía submaxilar pregestacional sobre las siguientes actividades enzimáticas implicadas en importantes funciones de la glándula mamaria:  $\gamma$ -glutamyl transpeptidasa,  $\gamma$ -GT, (secreción), glutathione-S-transferasa, GST, (detoxificación), glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, G6PDH, y 6-fosfogluconato deshidrogenasa, 6PGDH, (lipogénesis). Igualmente, se analizó la capacidad de respuesta del sistema receptor  $\beta$ -adrenérgico-adenilato ciclasa frente a distintos efectores (isoproterenol, toxina del cólera y forskolin).

Para esto se sialoadenectomizaron ratas vírgenes antes de la gestación, utilizando controles adecuados, y luego se cruzaron permitiendo una preñez y parto normales.

Los resultados mostraron notables cambios en las ratas sialoadenectomizadas durante la lactancia con disminución en las actividades

$\gamma$ -GT (60%), G6PDH (42%) y 6PGDH (45%) y sin cambio apreciable en GST. También disminuyó la capacidad de respuesta  $\beta$ -adrenérgica, medida como AMP cíclico producido, con los efectores isoproterenol (66%), toxina del cólera (60%) y forskolin (75%), indicando un mayor compromiso a nivel de adenilato ciclasa.

Se concluye que el EGF, derivado de la glándula sub-maxilar, juega un importante papel en la expresión de las actividades bioquímico-funcionales de la glándula mamaria.

(Proyecto DIB B 2116 - 8733)

#### INBREEDING Y SELECCION NATURAL EN UNA POBLACION DE VALPARAISO. (Inbreeding and natural selection in a population of Valparaiso).

Lazo, B., Campusano, C. y Figueroa, H. Laboratorio de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

Numerosos estudios han señalado la posibilidad de medir el efecto de la intensidad de la selección natural en la especie humana.

En el presente estudio se procura estimar dicho efecto en matrimonios consanguíneos y no consanguíneos, en consideración a que, de acuerdo a la teoría de la carga génica, deben esperarse mayores efectos deletéreos debido al inbreeding.

La información fue obtenida de los archivos de la Parroquia de Puchuncaví, población rural de la V Región. Corresponde a datos de los matrimonios consanguíneos y no consanguíneos, de sus hijos y de las defunciones durante el período en estudio (1835-1865).

El efecto selectivo se calculó mediante el índice de oportunidad de la selección natural propuesto por Crow (1958), con modificaciones propuestas por Neel y Schull (1972) y por Ned (1984):  $I = I_m + I_{iso} + I_{sf}$ .

Los resultados indican un índice levemente superior en no consanguíneos: 1,0652 (0,9715 en consanguíneos). Esta diferencia puede explicarse por los valores más altos de las componentes de mortalidad ( $I_m$ ) y de mujeres fértiles ( $I_{sf}$ ). Por otra parte, pueden considerarse otros factores como la menor edad al casarse de los consanguíneos (3 años como promedio) y a la reproducción compensatoria.

#### FUNCIONAMIENTO SIMULTANEO ENTRE NEURONAS OCULOMOTORAS DEL CENTRAL LATERAL Y DEL COLICULO SUPERIOR DEL GATO. (Simultaneous functioning between oculomotor neurons of central lateral and superior colliculus in the cat)

Leiva, J. e Infante, C. Departamento Preclínicas División Ciencias Médicas Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Tanto el núcleo talámico Central Lateral (CL) como el colículo superior (CS) están relacionados con los movimientos oculares (MOC), sin embargo las relaciones temporales de las descargas entre estas estructuras, se desconoce.

En 11 gatos adultos encéfalo aislado, mantenidos con respiración artificial (60% de  $N_2O$  y 40% de  $O_2$ ), se implantaron electrodos en los cuernos de la órbita para el registro electroclográfico (EOG). Con dos microelectrodos de Tg de 3-8 M $\Omega$ , ubicados estereotáxicamente se registró simultáneamente desde el CL y el CS del mismo lado, eventualmente se realizaron microestimulaciones. Los registros se monitorearon en un osciloscopio, se inscribieron simultáneamente con los MOC, en un polígrafo y se grabaron en cinta magnética. Al término del experimento, el cerebro fue removido para determinar la ubicación de los electrodos.

La mayoría, 7/8 de los pares de neuronas oculomotoras registradas en el CL y CS respondieron aumentando simultáneamente su frecuencia de descarga frente a MOC horizontales, contralaterales. En ambas estructuras las descargas precedieron, con diferentes latencias, el inicio del MOC. Las unidades del CS respondieron solo a movimientos contralaterales; las unidades del CL respondieron a MOC ipsi y contralaterales. En algunos casos a microestimulación del CL produjo un bloqueo de la actividad en unidades oculomotoras del CS.

Estos resultados confirman la existencia de un funcionamiento simultáneo en estructuras oculomotoras, y pone en evidencia la existencia de relaciones odológicas entre ellas.

Proyecto 1424 FONDECYT, 1987.

EFFECTOS DE CONEXIONES CONTINENTALES Y AISLAMIENTO EN LA RIQUEZA DE PLANTAS VASCULARES EN DOS ARCHIPIÉLAGOS DE CHILOE. (Lands bridges and Insular Biogeography in two Chiloe Archipelagos). Leiva, R., Depto. Biología, Fac. de Ciencias, Univ. de Chile (Patrocinio: C. Villagrán).

Se estudian 11 islas de los Grupos Guapiquillán y Esmeralda, situadas a 2.3 y 9.5 km al S. de la I. Grande, respectivamente. Datos acerca del nivel de mar durante el Holoceno sugieren que ambos Archipiélagos estuvieron conectados a la I. Grande y que su actual aislamiento data de 7000 años. Se evalúan las predicciones de la teoría de Biogeografía de Islas para estas islas continentales, considerando las desviaciones como indicio del rol de factores históricos en la actual riqueza de especies. Se realizaron regresiones parciales y múltiples, considerando N°s de spp totales y de 3 habitats (Abiertos, Margen y Bosque), áreas y 8 índices de aislamiento.

Los resultados de la relación área/especie muestran que: a) Para el Grupo Guapiquillán, los valores de pendiente (z) están en el rango descrito para continentes (0.09-0.18). b) Para el Grupo Esmeralda los valores de z son mayores (0.17-0.31) y, en tres casos, están por sobre el rango de los descritos para islas (0.40-0.84). El análisis de regresión múltiple muestra que: a) el área es el mejor predictor del N° de spp en todos los casos (73 al 84% de la variación), b) las distancias tienen menor importancia en explicar los N°s de spp totales y de Bosque (<11%). Para habitats Abiertos y de Margen las contribuciones de las distancias son mayores (15-22%).

Se concluye que el efecto de conexiones terrestres pasadas se expresa en Guapiquillán a través de un N° saturado de spp, reforzado por la mantención de una fuente secundaria en este Archipiélago (Quilan), lo suficientemente grande y cercana a las islas periféricas como para posibilitar constante reinmigración de taxa. En contraste, la distancia que separa el Grupo Esmeralda de cualquier fuente de especies restringe fuertemente la colonización, mientras que las pequeñas áreas de las islas posiblemente han determinado tasas de extinción altas. (Financiado por: FONDECYT 1467/DIB 8745).

ROL INDUCTIVO DE PULPAS DENTARIAS (INCISIVOS) DE CONEJO ADULTO EN REAGREGADOS HETEROLOGOS. (Inductive rol of the dental pulp from adult rabbit in heterologous reaggregates). Lemus, D., Fuenzalida, M., Romero, S. y Rose, C. Departamento de Morfología Experimental, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Durante la odontogénesis se establecen interacciones epitelio-mesenchimáticas. Sólo la papila tiene la capacidad de iniciar el proceso, pero ni el epitelio aislado, ni el mesénquima pueden diferenciarse por sí solos. El objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad inductora de pulpas de incisivos de crecimiento continuo de conejo en recombinados heterólogos in vitro (mamífero-ave). Se utilizaron conejos adultos, *Oryctolagus cuniculus* y embriones de codorniz, *Coturnix c. japonica* con 72 hrs. de desarrollo. Aisladas las pulpas se separaron en región apical (RA) y región coronal (RC). Por combinación quirúrgica-enzimática se aísla ectoderma del flanco de embriones de codorniz. Se asocian trocitos de RA y de RC con ectoderma de codorniz y se incuban por 8 ds (medio semisólido y corioalantoides de pollo). Los controles fueron: RA y RC solas, ectoderma sólo, y papilas de embriones de conejo asociado a ectoderma. Se observan los siguientes resultados: regresión y atrofia en RA y RC mas ectoderma y RA y RC solas. Diferenciación fenotípica en ectoderma sólo. Diferenciación dentaria en papila mas ectoderma. Estos resultados demuestran que la región apical de la pulpa dentaria no presenta capacidad inductora odontogénica, a pesar que desde un punto de vista morfológico muestra un gradiente de diferenciación semejante a un tejido dentario embrionario.

Financiado, Proyecto B 2681-8712. DIB.

RELACIONES FILOGENÉTICAS ENTRE POBLACIONES DEL GENERO *Atriplex* en BASE A MACROCARACTERES MORFOLÓGICOS. (Phylogenetic relationship among population of the genus *Atriplex* using morphological macrocharacters). León, P. M. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena. (Patrocinio: J. Gutiérrez).

Existen 20 especies del género *Atriplex* en Chile distribuidas entre las latitudes 18° y 33' Sur y las longitudes 71° 30' y 68° Oeste. Las poblaciones presentan un alto grado de variabilidad intra e interpoblacional para caracteres morfológicos, lo que ha suscitado controversia taxonómica. En el presente trabajo se analizó la capacidad discriminadora de 26 caracteres morfológicos para diferenciar poblaciones y especies.

En 23 poblaciones, se analizaron caracteres relacionados con: 1) la estructura floral, 2) fruto bracteolar y, 3) estructura foliar. Posteriormente se aplicó el método del árbol de Wagner para establecer posibles relaciones filogenéticas.

Los caracteres relacionados con estructura floral y fruto bracteolar presentaron una mayor capacidad discriminadora que los relacionados con la estructura foliar. Se diferenciaron claramente 6 especies y se establecieron 4 grandes zonas geográficas de importancia filogenética.

Para clarificar la taxonomía en el género *Atriplex*, es necesario realizar un acabado estudio filogenético, tomando en cuenta macro y microcaracteres, además de antecedentes fisiológicos, bioquímicos y genéticos.

Proyecto Fondecyt 1092/85 Dir. Inv. U. de La Serena.

EFFECTO DE 5-AZACITIDINA (5-AZAC) SOBRE LA CONDENSACION DE LA CROMATINA DURANTE LA MITOSIS. (Effect of 5-AzaC on chromatin condensation during mitosis). Leyton, C. y Sans, J. Depto. Biol. Cel. y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Uno de los eventos más trascendentales que ocurren durante la mitosis es el ciclo de condensación y decondensación de la cromatina. Evidencias experimentales sugieren que este ciclo depende de la expresión de genes durante la mitosis.

La incorporación de 5-AzaC (análogo de la citidina) al genoma incrementa la expresión de determinados genes, al parecer por un efecto hipometilante del DNA. También se ha visto que puede alterar el patrón de condensación de la cromatina.

En el presente trabajo se estudia el efecto in vitro de 5-AzaC sobre la condensación de la cromatina durante la mitosis, en células meristemáticas asincrónicas y sincrónicas de raíces de *Allium cepa* L., obtenidas por un cultivo hidropónico de bulbos.

Los resultados muestran que un tratamiento continuo con 5-AzaC 10<sup>-5</sup>M inhibe el crecimiento radicular después de las 48 hrs. Concomitante a ello hay una caída de la actividad mitótica. Se valoró el efecto de 5-AzaC sobre la condensación de la cromatina, determinando citológicamente la frecuencia de anafases atípicas. Tratamientos con este análogo durante 24 hrs, incrementa la incidencia de anafases atípicas. Tratamientos con 5-AzaC por períodos de 6 hrs, que involucran distintos segmentos de la interfase, muestran una mayor incidencia de anafases atípicas cuando el tratamiento cubre el período S, en particular la primera mitad de este período.

Estos resultados sugieren que 5-AzaC altera el patrón de condensación de la cromatina durante la mitosis, cuando éste se incorpora al DNA que replica preferentemente en la primera mitad del período S.

Proyectos 2365/8613 y B-2365/8723 D.I.B., U. de Chile y Convenio U. de Chile - C.S.I.C., España.

**SEPARACION PARCIAL DE DOS ACTIVIDADES APIRASICAS PRESENTES EN TUBERCULO DE *S. TUBEROSUM* VAR. *ULTIMUS*.** (Partial separation of two apyrase activities present in *S. tuberosum* var. *Ultimus* tuber). Leyton, M., Kettlun, A.M. y Traverso-Cori, A. Depto. de Bioquímica y Biología Molecular. Fac. Cs. Qcas. y Farm. Univ. de Chile.

La apirasa es una pirofosfohidrolasa que tiene distintos cuocientes de velocidad de hidrólisis de los sustratos ATP y ADP según la variedad de *S. tuberosum* de la cual se extrae la enzima.

En tubérculos de var. *Ultimus* el cuociente de actividades ATPásica/ADPásica es alrededor de 3. Al progresar en la purificación de la apirasa se encontró que esta preparación se resolvía en dos actividades apirásicas, una de cuociente alto y otra de cuociente bajo. Para descartar la posibilidad que estas dos actividades enzimáticas fueran producto de proteólisis de una misma apirasa se efectuó la preparación en presencia de inhibidores de proteasas. No se encontró diferencias significativas en las distintas etapas de purificación entre las preparaciones en presencia o ausencia de estos inhibidores.

Se determinó el punto isoelectrónico de estas apirásas por electroenfoque siendo de 6,6 para la de cuociente ATPásico/ADPásico alto y de 5,7 para la de cuociente ATPásico/ADPásico bajo. Basiéndose en estas diferencias de pI se intentó separarlas por cromatografía de intercambio iónico y por cromatografía de obtención en ambos casos separación parcial de estas dos actividades apirásicas. Estos resultados apuntan a la coexistencia dentro del tubérculo de dos isoenzimas de la apirasa, hecho no descrito en otra variedad de *S. tuberosum*. \*Financiado: DTI (U. de Chile) Proyectos B-2079/8724 y B-2079/8734.

**INTERFERENCIA DE COCAINA EN EL EFECTO CARDIOESTIMULANTE DE ACETALDEHIDO.** (Cocaine interference on the cardiac stimulant effect of Acetaldehyde). Ligueros, M., Saavedra, A. y Penna, M. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El acetaldehído (AcH) principal metabolito del etanol, libera catecolaminas y es una sustancia más reactiva y más liposoluble que el etanol mismo y puede ser responsable de algunos efectos bioquímicos y farmacológicos.

En aurículas con latido espontáneo el AcH produjo un aumento de la frecuencia espontánea dosis dependiente de 42,5 + 7,2 y de 81,7 + 9,03 lat/min para las concentraciones de AcH de 29,5 y 88,5 mM respectivamente. Este efecto cronotrópico positivo del AcH fue potenciado por cocaína (5,88 x 10<sup>-5</sup> M) y los incrementos de frecuencia fueron de 107 + 10,8 lat/min y de 125 + 10,8 lat/min para las mismas concentraciones. Por el contrario la misma concentración de cocaína inhibe de manera significativa el efecto cronotrópico positivo de tiramina (1,1 x 10<sup>-3</sup> mM y 2,3 x 10<sup>-3</sup> mM), amina adrenérgica de efecto indirecto.

Como los cambios de frecuencia espontánea modifican la tensión desarrollada (TD), se estudió en aurículas eléctricamente dirigidas, el efecto inótropo positivo del AcH en las mismas concentraciones, observándose un aumento de TD de 35,1 + 9,74% y en 56,0 + 14,88% respectivamente. La incubación previa con cocaína no aumentó dicho efecto, mientras que el efecto inótropo positivo de tiramina (de magnitud similar al producido por AcH), fue bloqueado por el anestésico local.

La diferente respuesta a la cocaína podría corresponder a una diversa participación del ión calcio en la liberación del neurotransmisor adrenérgico por AcH y tiramina.

Financiado por Proyectos N° 0472 de FONDECYT y N° B 2680-8715 del DIB, Universidad de Chile.

**MECANISMOS DE ACCION DE LA DESFERIOXAMINA (DFO).** (Mechanisms of Desferrioxamine Action (DFO)). Lissi, E., Cáceres, T., Videla, L. Depto. Química, USACH y Unidad de Bioquímica, Unidad Occidente, U. de Chile.

DFO es frecuentemente usada como un inhibidor de procesos radicalarios mediados por iones Fe. El modo de acción asumido para la DFO, por lo menos a bajas concentraciones, es la quelación de los iones Fe(III). A concentraciones mayores que 100 µM, podría ser importante la capacidad de la DFO de interactuar con los radicales OH y/o los radicales superóxido. A fin de determinar la capacidad antioxidante de la DFO independientemente de su poder quelante, hemos estudiado su efecto sobre la velocidad de oxidación de membranas de eritrocitos iniciada por Azo-bis amidino propano, un iniciador térmico soluble en agua. Este sistema no es dependiente de la presencia de iones Fe. A pesar de esto se observa un efecto retardador de la DFO sobre la velocidad de lipoperoxidación, evaluada por el consumo de oxígeno y la luminiscencia visible emitida durante el proceso. El efecto de la DFO es evidenciado a bajas concentraciones y la velocidad del proceso se reduce a la mitad con una concentración de DFO de 10 µM.

Experiencias realizadas en presencia de DFO a iones Fe(II) o Fe(III), indican que el complejo DFO-Fe(III) es considerablemente menos eficiente como antioxidante que la DFO. Asimismo, estas experiencias indican que el complejo DFO-Fe(II) puede ser oxidado instantáneamente a complejo férrico por acción del oxígeno. Este tipo de proceso podría desempeñar un papel importante en la acción de la DFO, tanto "in vivo" como "in vitro".

Agradecimientos. Este trabajo fue financiado por D.T.I. Universidad de Chile (B-1860), DICYT, Universidad de Santiago y FONDECYT (8/1987 y 1433/1986).

**ANTIGENOS HLA EN CARDIOMIOPATIAS CHAGASICAS CHILENAS.** (HLA antigens in cardiomyopathic Chilean chagasic). Llop, E., Rothhammer, F., Acuña, M. y Apt, W. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Con el objeto de evaluar la relación existente entre el sistema HLA y la susceptibilidad de desarrollar cardiopatía chagásica, se estudió este sistema en una muestra de 124 individuos serológicamente positivos para enfermedad de Chagas, residentes de las ciudades de Combarbalá e Illapel situadas en la zona más endémica de Chile. La muestra se subdividió en dos grupos de acuerdo a la presencia o ausencia de cardiopatía chagásica, para realizar un análisis comparativo de frecuencias génicas entre ambos.

Los resultados revelaron diferencias significativas entre cardiomiopatas y no cardiomiopatas chagásicas, para el haplotipo B40Cw3. Este haplotipo se encontró ausente entre los cardiomiopatas y presentó una frecuencia de 7.8% entre los no cardiomiopatas. La ausencia de este haplotipo entre los cardiomiopatas podría estar asociada con una mayor susceptibilidad de desarrollar cardiopatía chagásica. Dada la antigüedad de la enfermedad en el norte de Chile, podría esperarse una adaptación genética de las poblaciones aborígenes chilenas a *Trypanosoma cruzi*.

Esta investigación recibió financiamiento de los proyectos 801/86 Fondecyt, Conicyt y UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases.

MODULACION DE LA PERMEABILIDAD A POTASIO EN CELULAS ADRENALES DE GLOMERULOSA POR ANGIOTENSINA II. (Angiotensin II causes a dual effect on potassium permeability in adrenal glomerulosa cells). Lobo M.V. Depto. Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Usando un sistema de perfusión de células aisladas de glomerulosa, previamente cargadas con  $Rb^{86}$ , se midió la velocidad de salida del radioisótopo. Angiotensina II (All), modificó en forma bifásica la salida de  $Rb^{86}$  produciendo un aumento transitorio inicial, seguido de una inhibición mantenida en la salida del isótopo. Esta inhibición fue dependiente de la concentración de la hormona en el medio perfusión. Apamina y tetraetilamonio bloquearon el aumento inicial de la salida de  $Rb^{86}$  producido por All, pero no modificaron la fase inhibitoria. Esta segunda fase no se manifestó en ausencia de calcio externo o cuando el medio contenía estroncio en reemplazo del ión calcio.

Un hallazgo adicional fue el aumento del coeficiente de velocidad de salida de  $Rb^{86}$  que se observó cuando las células fueron depolarizadas con potasio (12 mM). Sin embargo, este efecto no se manifestó durante la fase inhibitoria de All. El aumento de la salida de  $Rb^{86}$  producido por el ionóforo A23187 tampoco se observó durante la fase inhibitoria de la hormona.

Estos resultados sugieren que angiotensina II podría estar modulando el potencial de membrana al cambiar la permeabilidad al ión potasio en estas células.

Financiado por Proyecto FONDECYT Nº 605 y DIB Nº B-2363-8725.

CARACTERIZACION DE APIRASA LIGADAS A MEMBRANAS DE TEJIDOS ANIMAL Y VEGETAL. (Characterization of membrane-bound apyrases from animal and plant tissues). López, J., Mancilla, M., Valenzuela, M.A. Depto. de Bio. y Biol. Mol. Fac. Cs. Qcas. y Farm. U. de Chile.

Se ha descrito apirasa en membranas microsomaes tanto de tejidos animales como vegetales. En este trabajo se demuestra la presencia de una actividad apirásica (ATPasa-ADPasa) en la fracción microsomal de tubérculo de S. tuberosum var. Désirée y en la de dos tejidos secretores: la glándula mamaria y parrótida de rata.

La actividad apirásica en los tejidos animales se encuentra asociada a membranas después de efectuar una centrifugación diferencial (sedimento de 113.000 x g), en cambio en el tubérculo esta actividad se detecta mayoritariamente en la fracción citosólica.

Las fracciones microsomaes de tubérculo, glándula mamaria y parótida se caracterizaron en cuanto a especificidad de sustrato, efecto de inhibidores, pH óptimo y parámetro cinéticos.

Estas fracciones tienen contaminación con actividad fosfatásica y otras actividades ATPásicas. Además, en las fracciones de tejidos animales se observó actividad de quinasa adenilica. Las diferentes apirases microsomaes son inhibidas distintamente por venadato, DCCO, DES, oligomicina, fluoruro, azida y quebafina. El pH óptimo para la apirasa de origen animal es 8,2, en cambio para la apirasa de tubérculo es de 6,0. Los valores de Km determinados para las actividades ATPásica y ADPásica en las tres fracciones son del mismo orden de magnitud.

Se intentaron varios procedimientos para solubilizar esta enzima microsomal a fin de compararla con la apirasa soluble de tubérculo de S. tuberosum, ya caracterizada en nuestro laboratorio. Proyectos DTI B-2079/8734 y FONDECYT Nº 49.

CLONAMIENTO Y CARACTERIZACION DEL GEN DE ACROSINA HUMANA. (Cloning and Characterization of the Human Acrosin Gene). López, C., Ibarra, M. y De Ioannes, A. Lab. Inmunología. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile.

La acrosina es una serina proteasa que parece estar involucrada en la penetración del espermatozoide a través de la zona pelúcida del oocito durante la fertilización. Debido a su actividad proteolítica, se ha postulado que esta enzima podría participar en la reacción acrosómica descubriendo o activando receptores específicos para el espermatozoide en la zona del oocito.

La acrosina se localiza en el acrosoma del espermatozoide en forma de proenzima la que es activada por proteólisis del extremo amino terminal. Esta proteína se expresa sólo en tejido testicular y, a diferencia de otras serinas proteasas que son secretadas como tripsina- la acrosina es destinada al compartimento acrosomal. La acrosina además de ser un autoantígeno, constituye un modelo que permitirá comprender los mecanismos de destinación de las proteínas al compartimento acrosomal, donde se localizan otras proteínas que son fundamentales en el proceso de fertilización.

En este trabajo se ha realizado el análisis de una genoteca comercial de cDNA de testículo humano en lambda gt10 con el propósito de aislar el gen de acrosina. Esto nos permitirá posteriormente estudiar las señales de destinación y procesamiento de la enzima. Por otro lado, se obtendrán cantidades suficientes de la proteína que facilitarán los estudios inmunológicos, que tienen el propósito de determinar la participación de acrosina en el proceso de fertilización.

En un análisis parcial de la genoteca se han aislado 4 fagos recombinantes. Las proteínas de las placas de lisis de uno de estos fagos, inmovilizadas en filtros de nitrocelulosa, son capaces de adsorber en forma específica los anticuerpos antiacrosina, lo que sugiere que el fago aislado contiene el gen de la acrosina humana. El tamaño del fragmento clonado, es de alrededor de 2,4 kb. Por otro lado, se ha caracterizado la proteína de fusión mediante westernblotting.

POTENCIACION DE RESPUESTAS PRESORAS DE NORADRENALINA POR NEUROPEPTIDO TIROSINA (NPY). (NPY-induced potentiation of norepinephrine pressor responses). López, L.F. Laboratorio de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile (Patrocinio: J. Roblero S.).

NPY es un péptido de 36 aminoácidos que se encuentra co-localizado con noradrenalina (NA) en los terminales simpáticos y muy particularmente en las varicosidades noradrenérgicas de los vasos sanguíneos. Se sabe que en determinadas condiciones NA se co-libera junto con NPY. Para investigar si existen interacciones entre NA y NPY en el territorio vascular periférico, se procedió a registrar presión arterial carotídea en ratas Sprague-Dawley (250-300 g) no anestesiadas a las cuales se inyecta NA o NPY e.v. NPY produce una respuesta presora dosis dependiente que dura entre 3-10 minutos. La curva dosis-respuesta de NPY prácticamente se superpone con la de NA, indicando similares potencias presoras. Se observó que posterior a la administración de NPY, cuando la presión vuelve a su valor control, la respuesta presora inducida por NA está potenciada tanto en magnitud como en tiempo de duración. La relación entre la dosis y la respuesta presora de NA se desplaza hacia la izquierda en forma paralela por acción de la pre-administración del NPY. La potenciación de la NA es dependiente de la dosis de NPY y dura entre 10 y 20 minutos. Este sinergismo no es el resultado de un artefacto ya que la administración de salino no produjo potenciación. Se determinó que NPY potencia las respuestas hipertensoras inducidas por angiotensina II y adrenalina. Tratamiento con NPY no modificó la vasodilatación inducida por bradicinina. En una serie paralela de experimentos, se evaluó si existe potenciación de NA en ratas reserpinizadas. Se discuten las implicaciones fisiopatológicas de este sinergismo y la importancia en la patogenia de algunas enfermedades vasculares.

Proyectos CONICYT 1416/86 y DIUC 74/86.

ANALISIS CITOQUIMICO DE LA SUPERFICIE DE ESPERMATOZOIDES DE POTRO DURANTE EL PROCESO DE MADURACION ESPERMATICA. (Cytochemical analysis of the stallion spermatozoa membrane during the epididymal transit). López, M.L. De Souza, W. Depto. Biol. Celular y Gen. Fac. Medicina, U. de Chile, Inst. Biofísica, UFRJ, Brasil. Existen evidencias que demuestran modificaciones de la superficie del espermatozoide durante el proceso de maduración espermática. A nivel molecular estos cambios no están claramente determinados y sólo se conocen en algunas especies. El presente trabajo tiene como objetivos: a) analizar la densidad relativa, características y distribución de los sitios aniónicos presentes en la membrana de espermatozoides de potro durante el proceso de maduración. Las cargas de superficie se estudiaron mediante medidas de movilidad electroforética y citoquímica ultraestructural. b) estudiar la distribución de colesterol en la membrana de estos gametos durante el tránsito epididimario, utilizando filipina como marcador y criofractura. Macromoléculas con residuos glucosídicos se detectan en la membrana y muestran una distribución característica que es dependiente de cada región del gameto y de su origen. A diferencia de espermatozoides de otros mamíferos examinados, el tratamiento con neuraminidasa no altera significativamente la densidad de cargas negativas. Nuestros resultados muestran que el ácido siálico puede estar presente en una forma acetilada. Las medidas de movilidad celular y los resultados citoquímicos no muestran diferencias significativas en las cargas negativas de espermatozoides obtenidos de diferentes regiones de epidídimo y de eyaculado así como en los extraídos durante y fuera de estación reproductiva. Así mismo se observaron diferencias en el contenido de colesterol en espermatozoides de diversas regiones del tracto reproductivo, así como en las distintas regiones del propio gameto. Se discute el significado de esta asimetría, en relación a la funcionalidad del espermatozoide. (Pogr: Conicyt-CNPq). (P. DIB - B-2687-8713).

UN METODO ISOCRATICO RAPIDO Y SIMPLE PARA SEPARAR Y CUANTIFICAR POR HPLC, ACETANILIDA Y SUS DERIVADOS HIDROXILADOS INCLUYENDO PARACETAMOL. (An isocratic rapid and simple HPLC method to separate and quantify Acetanilide and its hydroxyderivatives including Paracetamol). Mancilla, J. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (Patrocinio: Gil, L.)

Una columna de fase reversa  $\mu$  Bondapak C-18 se ha usado para separar y cuantificar por cromatografía líquida de alta presión Acetanilida y sus derivados aromáticos monohidroxiados en posiciones 2-, 3-, 4 (este último compuesto es comúnmente conocido como Paracetamol o Acetaminofeno).

La separación se obtiene en 18 minutos usando una mezcla isocrática de isopropanol:metanol:agua:8:18:74 (v/v). Los tiempos de retención son 10,5 y 12 minutos para 4-hidroxiacetanilida y 3-Hidroxiacetanilida; 2-Hidroxiacetanilida y Acetanilida presentan tiempos de retención de 13 y 18 minutos respectivamente. Los valores de R (resolución) para cada par de picos cercanos son: 2.66 (3-Hidroxiacetanilida y 4-Hidroxiacetanilida); 1.33 (3-Hidroxiacetanilida y 2-Hidroxiacetanilida); 6.4 (2-Hidroxiacetanilida y acetanilida).

La sensibilidad del método permite detectar desde 2 ng para Paracetamol y desde 10 ng para 2-hidroxiacetanilida. A diferencia de otros métodos publicados en la literatura, esta técnica permite separar en fase reversa, todos los productos hidroxiados de la acetanilida, en solo 18 minutos, sin usar gradientes.

Con esta técnica se puede determinar fácilmente derivados oxidados de acetanilida ya sea por microsomas de hígado u otros órganos.

Financiado por proyecto B-1970-8745, DIR, U. de Chile y 0573 FONDECYT

CONSECUENCIAS ECOLOGICAS DE UN AMBIENTE TERMICO RIGUROSO: EL CASO DE LOS LAGARTOS Liolaemus DE LOS ALTOS ANDES DEL NORTE DE CHILE (Ecological consequences of a harsh thermal environment: the case of high Andean Liolaemus lizards in northern Chile) Marquet, P.A., Ortíz, J.C., Jaksic, F.M. (1) Depto. de Biología Ambiental, P. Univ. Católica de Chile, Santiago (2) Depto. de Zoología, U. de Concepción, Concepción (Patrocinio: J.C. Ortíz).

Como una manera de evaluar la importancia ecológica del ambiente térmico en ectotermos, documentaremos la temperatura de actividad en terreno, patrones de actividad diarios, grado de precisión en la termoregulación y uso de microhábitats en cuatro especies de lagartos Liolaemus que habitan a gran altura (sobre 3500 m) en los Andes del Norte de Chile. Estos cuatro lagartos tienen temperaturas de actividad en terreno similares (29°C aprox.) a pesar de estar distribuidos en diferentes cinturones altitudinales, sin embargo, existen conspicuas diferencias entre las especies de baja altitud (Liolaemus sp. y L. ornatus) y las de mayor altitud (L. alticolor y L. jamesi) con respecto al grado de precisión en la termoregulación y al período de actividad. Algunas diferencias en morfología, comportamiento y patrones de uso de microhábitats son también evidentes en estas especies y al parecer están relacionadas al ambiente térmico al cual están expuestas.

En comparación a ocho especies de Liolaemus en Chile central (TAT 35°C aprox.). Las cuatro especies de altura aquí estudiadas tienen TAT menores. Esto último aparentemente se debe a limitantes impuestas por un ambiente térmico riguroso.

Nuestros resultados señalan que ambientes térmicos rigurosos como el de los Altos Andes, tienen gran influencia en la ecología de ectotermos, comprimiendo el eje temporal del nicho y restringiendo el uso de microhábitats de acuerdo a los rasgos morfológicos de las especies. Es muy probable que los sistemas sociales sean afectados también. Financiado por proyecto 20.3802 Dir. Inv. U. Concepción y DIUC 086/86, U. Católica de Chile

DETECCION DE RESPUESTA INMUNE EN ADENOCARCINOMAS GASTRICOS HUMANOS. (Detection of an immune response in human gastric adenocarcinomas). Marshall, S., Muñoz, G., Cabrera, M., González, F., y Horvat, A. Laboratorio de Genética Molecular, Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso.

Muestras obtenidas de pacientes que padecen de adenocarcinomas gástricos terminales, reaccionan en forma específica con Inmunoglobulina G procedente de su propio suero. Esta reacción es detectable tanto en células intactas, como en fracciones subcelulares de las mismas; lo que indica que el organismo reconoce alguna señal tumoral.

Los ensayos consisten en la incubación de IgGs purificadas por DEAE-celulosa y conjugadas con fluorocromos, con las diferentes fuentes de posibles antígenos tumorales y detectadas por la emisión de fluorescencia. Se utilizó la población de IgGs de un paciente, la que se hizo reaccionar con diferentes fracciones subcelulares obtenidas del procesamiento de una resección quirúrgica del tumor y se obtuvo una respuesta significativa con la fracción microsomal. Esta reacción fue también detectada al incubar las IgGs con células libres provenientes del mismo tumor, las que fueron mantenidas en cultivo primario. Como control negativo, se realizaron las incubaciones con IgGs provenientes de individuos normales. La especificidad de la reacción se demuestra por la ausencia de reactividad cruzada entre las muestras de origen tumoral y las IgGs de origen normal. Cabe destacar que sólo se detecta reactividad cruzada al medir las reacciones entre fracción microsomal e IgGs de diferentes pacientes con cáncer gástrico avanzado, pero ninguna de estas respuestas es superior a la que cada paciente presenta frente a las IgGs obtenidas de su propio suero.

Se discutirá las implicancias y proyecciones de estas observaciones a la luz de nuestro modelo de bases moleculares del cáncer gástrico humano.

RESPUESTAS MORFOFISIOLÓGICAS DE SOPHORA MACROCARPA (Morphophysiological responses of *Sophora macrocarpa* Sm.). Martínez, J.A. y Lobos C. El Pillán 1793, Las Condes, Stgo. y Universidad Metropolitana.

*Sophora macrocarpa*, una leguminosa de la zona central de Chile, fue estudiada estacionalmente con el objeto de determinar su morfología y conducta ecofisiológica en relación a la disponibilidad hídrica en su hábitat natural; se analizaron las respuestas a factores microclimáticos de los estomas, el potencial hídrico del xilema y de las hojas. Las mediciones de conductancia estomática se realizaron mediante un porómetro de difusión (LICOR LI 700), los potenciales foliares con una cámara psicrométrica (WESCOR C 52) y los potenciales xilemáticos con una bomba de presión (PMS, según Scholander). Además, de las adaptaciones morfológicas que la especie presenta para vivir en hábitats semiáridos (i.e. pilosidad foliar, estomas en la cara abaxial) se describe la presencia de nódulos radicales. Los estomas tienden a permanecer cerrados durante los días de verano (valores menores de 0,03 cm/seg) lo cual coincide con potenciales de prealba y mediodía mayores de 4,0 MPA. Los potenciales hídricos decrecen con el aumento de agua del suelo hasta alcanzar valores del orden de 0,3 MPA durante el invierno.

El control hídrico que exhibe la especie permite regular la disipación calórica y representa un mecanismo adaptativo para soportar la sequía de verano. Adicionalmente se discute el potencial económico de la especie.

UN NUEVO ENFOQUE PARA LA CRISTALIZACIÓN DE  $\beta$ -LACTAMASAS. (A new approach for the crystallization of  $\beta$ -lactamases). Martínez, J.A., Lab. de Biofísica Molecular, Depto. de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Se han realizado muchos esfuerzos para resolver la estructura terciaria y conformación del sitio activo de las  $\beta$ -lactamasas, pero la calidad de los cristales obtenidos sólo ha permitido estudios por difracción de rayos-X a baja resolución. Un modelo estructural propuesto en base a predicción de estructura secundaria, describe la molécula como dos dominios unidos por una hbra flexible de la cadena polipeptídica. Estudios espectroscópicos realizados con las enzimas obtenidas de dos especies bacterianas diferentes, demuestran que la proteína sufre un cambio conformacional al someterla a un campo eléctrico, el que puede explicarse por la flexibilidad de los dos dominios. Dado que los problemas de cristalización de la enzima podrían deberse a posibles perturbaciones que una estructura formada por dos dominios flexibles produce en el crecimiento ordenado de los cristales, se realizaron estudios para restringir la flexibilidad de la enzima de *Bacillus cereus* mediante un entrecruzamiento entre los dominios, con glutaraldehído. El cambio de la cinética bifásica de la enzima nativa, a lineal de la enzima entrecruzada-utilizando cloxacilina como sustrato-, se consideró un indicador de la pérdida de flexibilidad por entrecruzamiento. Estudios de cristalización comparativos de la enzima nativa y entrecruzada, permiten demostrar el rol que la flexibilidad de la molécula juega en este proceso.

Proyecto 20.31.12, D.I. U. de Concepción  
Proyecto 89/87 FONDECYT.

ESTIMULACION PRECOZ Y SUS EFECTOS EN LA CONDUCTA DIRIGIDA EN RATAS CON PRIVACION ALIMENTARIA. (Effects of early stimulation on competitive behavior in rats food deprived). Martínez, M.I., Guadagno, H., Passig, C., Arraztoa, J.A. y Pinto-Hamuy, T. Departamento de Fisiología y Biofísica, División Norte, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (Patrocinio: T. Pinto-Hamuy).

Se han hecho numerosas investigaciones sobre el efecto de la estimulación precoz en estructuras del S.N.C. y la conducta. No se conocen los efectos de la estimulación precoz sobre la conducta competitiva para satisfacer necesidades primarias como el hambre o la sed. El objeto del presente trabajo es intentar evaluar el efecto de la estimulación precoz sobre la conducta competitiva en ratas con privación alimentaria.

Se tomó como indicador de competitividad la precedencia de 1 sujeto sobre su pareja en llegar a la meta. Se usaron ratas machos pigmentadas. El grupo medio enriquecido (ME), N=6, se estimuló a partir del 10 a 24 días de nacimiento. El grupo control, medio social (MS), N=6, se mantuvo en condiciones normales.

A los 3 meses de edad se enfrentaron a la prueba parejas provenientes de ambos grupos, según tabla de contingencia de 6 x 6. Total 36 ensayos. El aparato consistía en dos pasillos que conflúan a la caja meta a través de una entrada que permitía el paso de un sujeto a la vez. Se usaron los siguientes indicadores: Orden de llegada y latencia de respuestas de cada pareja. Se evaluaron estadísticamente las diferencias de respuestas en cada grupo y entre los dos grupos.

Los sujetos ME llegaron 1° a la meta, y las latencias de sus respuestas fueron también significativamente menores, ( $p < 0,05$ ).

Se concluye que la estimulación precoz favorece la conducta competitiva en ratas con privación alimentaria.

Se comparan estos resultados con los obtenidos en situación de privación de agua.

Proyecto DIB 1903, Universidad de Chile y FONDECYT 115/84, 586/87.

EFFECTO DEL ENTRENAMIENTO Y DEL ESTRÉS DE COMPETENCIA SOBRE PARAMETROS NEUROENDOCRINOS EN EL CABALLO FINA SANGRE DE CARRERA (Effect of training and competition stress on thoroughbred race horse) Martínez, R., Godoy, A., Narotto, E. y White, A. Dpto. Cs. Biológicas Animales y Dpto. Cs. Clínicas Pecuarias, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias; y, Dpto. Fisiología y Biofísica, Fac. Medicina, Universidad de Chile.

Existe consenso entre los profesionales de la hípica de que los caballos fina sangre de carrera (F.S.) nerviosos experimentarían alteraciones neuroendocrinas que afectarían negativamente su rendimiento durante la competencia. Por este motivo en este trabajo caracterizamos sistemáticamente la influencia del temperamento (caballos nerviosos) sobre algunos parámetros fisiológicos de reconocida implicancia en el rendimiento locomotivo, tales como cortisol, catecolaminas, glicemia y hematocrito.

Las determinaciones fueron efectuadas en sangre obtenida por punción yugular de caballos F.S. no entrenados, así como también en Caballos F.S. entrenados, antes y después del cambio de herraduras e inmediatamente post carrera. Glicemia y hematocrito fueron determinados tan pronto fue obtenida la muestra mediante las técnicas de Dextrostix leído en glucómetro y microhematocrito respectivamente. Cortisol y catecolaminas fueron analizados mediante radioinmunoanálisis en muestras de plasma.

En animales entrenados, en condiciones basales, se observó valores mayores de hematocrito y de cortisol plasmático ( $44,2 \pm 2,6$  y  $3,8 \pm 0,8$  respectivamente) con respecto a los animales no entrenados ( $31,8 \pm 2,1$  y  $1,5 \pm 0,3$  respectivamente), asimismo el ritmo circadiano del cortisol en los ejemplares entrenados presenta un pico alrededor de las 8:00 hrs., mientras que en los no entrenados éste se ubica 2 horas más tarde. Los caballos F.S. de temperamento nervioso no presentaron diferencias significativas en los niveles de cortisol, catecolaminas, glicemia y hematocrito con respecto a los animales tranquilos, observándose aumentos en estos parámetros después de la competencia en ambos grupos, los que no fueron significativos sólo en el caso del cortisol.

A la luz de estos resultados se concluye que el entrenamiento produciría en el equino F.S. cambios en los parámetros analizados, adecuados a las exigencias metabólicas del estrés físico de competencia; mientras que no se observan diferencias significativas sobre los mismos parámetros en animales entrenados de distinto temperamento.

Financiado por: Proyecto 0815/86 de FONDECYT.

**DISTRIBUCION ESPACIAL DE LAS PROYECCIONES ESTRIADAS-PERIESTRIADAS VERSUS PATRON COMISURAL EN *Marmosa elegans*.** (Spatial distribution of the striate - peristriate projection versus the commissural pattern in *Marmosa elegans*). Martinich, S.; Bravo, H. Departamento de Anatomía, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El patrón interhemisférico constituye un criterio útil para la delimitación de las áreas visuales. En mamíferos se ha demostrado que en los bordes de estas áreas se concentra la mayor densidad de cuerpos y terminales de las fibras interhemisféricas.

Utilizando el transporte retrógrado y anterógrado de HRP hemos correlacionado el patrón de conexiones interhemisféricas de *M. elegans* con las conexiones que existen entre el área estriada y el resto de la corteza del mismo hemisferio.

El patrón interhemisférico de *M. elegans*, que se establece a través de la comisura anterior, nos ha permitido localizar el área estriada y subdividir la corteza extraestriada en múltiples regiones limitadas por bandas comisurales. Por otra parte, el área estriada conecta con varias regiones extraestriadas y con una región situada en corteza sensorio-motora. Estos focos de marcación ipsilateral coinciden con las regiones corticales de escasa proyección comisural.

Lo anterior permite plantear la hipótesis de que las regiones corticales que están limitadas por bandas comisurales corresponden a múltiples áreas visuales extraestriadas, cada una de las cuales establece conexiones recíprocas con el área estriada. Alternativamente, estas múltiples regiones podrían ser subdivisiones de una o más áreas secundarias que procesan información visual en forma modular.

Estos resultados coinciden con estudios que muestran que en la corteza de los mamíferos existen múltiples especializaciones que posibilitan un procesamiento jerárquico y/o paralelo de los estímulos visuales.

Financiado por Proyectos DIUC 114/87 y Fondecyt 714/87

**EFFECTO DEL ENTRENAMIENTO DE FUERZA SOBRE LA VELOCIDAD DE CONDUCCION NERVIOSA (VCN).** (Effect of strength training on the nerve conduction velocity).

Maulén, J.; Vargas, R.; Montecinos, R.; Guajardo, J.; Acevedo, R.; Gutiérrez, J.; Vergara, I. Lab. Fisiol. Ejercicio. Área Ciencias Básicas. Sede Maule. P.U.C. DE CH.

Se estudió la VCN en 13 sujetos normales de 19.2 ± 1.1 años, los que entrenaron potencia muscular trabajando al 70% de la máxima fuerza, 3 veces a la semana por 8 semanas. - La VCN se midió antes y al término del entrenamiento (AE, TE), y al término de un periodo igual de desentrenamiento (TD). - Se usó una técnica electrofisiológica habitual a 24°C temperatura ambiente; los sujetos tuvieron 10 minutos de reposo previo en posición decúbito dorsal y ningún entrenamiento desde el día anterior; se exploraron los nervios mediano, cubital, tibial anterior y posterior (M, C, TA y TP) de extremidad derecha. - Se hicieron las siguientes comparaciones: AE/TE; TE/TD y AE/TD. A los resultados se les calculó:  $\bar{x}$ , DE, % de diferencia y se aplicó la t de Student para datos pareados. La comparación AE/TE mostró aumento de la VCN de 15.6; 47.2 y 27.1% ( $p < 0.01$ ; 0.001; 0.001) en M, C, y TA. La comparación TE/TD mostró una disminución de la VCN de 22.0; 38.1 y 15.1% ( $p < 0.001$ ; 0.001; 0.02; 0.05) en los cuatro nervios. La comparación AE/TD mostró que al término del desentrenamiento la VCN retornó al valor inicial, excepto en M que fue aún menor en 9.8% ( $p < 0.02$ ). - Se conocen bien los cambios estructurales y funcionales que experimentan el músculo esquelético sometido a entrenamiento de fuerza; menor atención se ha dado al comportamiento del sistema nervioso central y periférico. En relación a lo último se discuten posibles cambios estructurales, basados en datos de la literatura de experimentos en modelo animal, para explicar las alteraciones de la VCN del presente trabajo.

PROYECTO FOMENTO 1986-1987.- SEDE MAULE-PUCCH.

**LA INFLUENCIA DE NALOXONA SOBRE LOS EFECTOS INFLAMATORIOS DE LA BRADICININA.** (The influence of naloxone upon inflammatory reactions of bradykinin). Martín, N.; Vargas, M.; Van Rysselberghe, J.; Araya, C. Depto. de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y de Rec. Naturales. Universidad de Concepción.

La bradicinina y péptidos relacionados se liberan en el proceso inflamatorio inducido por carragenina en las extremidades de la rata, promoviendo edema e hiperalgesia. Estos efectos se asocian a las acciones de otros mediadores como serotonina (5-HT) y prostaglandinas. Recientemente, a la bradicinina se le ha señalado como un potencial liberador de encefalinas.

En trabajos anteriores hemos comunicado que la bradicinina (5  $\mu$ g), administrada in situ conjuntamente con la carragenina, es capaz de reducir la hiperalgesia inducida por ésta, en nuestros tiempos de control: 80 y 180 min; manteniéndose este efecto con la administración de un inhibidor de la cininasa II, que promueve su mayor vida media.

En el presente trabajo, en las mismas condiciones experimentales anteriores, la administración i.p. previa de naloxona, en dosis de 2 y 4 mg/Kg provocaron efectos hipotalgésicos muy significativos a los 80 min, los cuales desaparecieron a los 180, restaurándose una marcada hiperalgesia. Naloxona 1 mg/Kg, no modificó la respuesta nociceptiva de bradicinina pero sí antagonizó el edema inducido por ella en ambos tiempos de control. Las dosis de 2 y 4 mg/Kg, mantuvieron o aumentaron el edema a los 80 min sin llegar a establecerse una relación lineal. De estos resultados y de otras observaciones que se realizan se puede deducir que la naloxona modifica los efectos nociceptivos de bradicinina en relación a la dosis utilizada, lo cual podría involucrar una interacción a nivel de receptores opiáceos. Las acciones sobre el edema difieren de los anteriores, pero también puede establecerse una interacción, a dosis bajas de naloxona.

Proyecto 20.33.20. Dirección de Investigación. Universidad de Concepción.

**EVIDENCIA EXPERIMENTAL DE AUTOTOMIA EN LAGARTIJAS COMO UN INDICADOR DE LA INEFICIENCIA DE DEPREDADORES** (Experimental evidence of autotomy in lizards as an indicator of predator inefficiency). Medel, R. y Jaksic, F. Departamento Biología Ambiental y de Poblaciones, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Normalmente estudios de depredación sobre lagartijas han considerado que la frecuencia de colas regeneradas es un buen estimador de la presión de depredación a la que las poblaciones están expuestas, sin embargo, estudios correlacionales han refutado aquella afirmación indicando que la frecuencia de colas regeneradas es mejor indicador de la ineficiencia de los depredadores que de la presión ejercida por ellos.

Este trabajo evalúa por medio de un protocolo experimental de laboratorio, la ineficiencia de los depredadores *C. maculatus*, *F. sparverius* y *P. chamissonis*, al interactuar con *L. altissimus*, *L. lemniscatus* y *L. monticola*. La ineficiencia de cada depredador es evaluada como el porcentaje de autotomías exitosas que ocasiona sobre el total de ataques. Paralelamente se evalúa la vulnerabilidad relativa de las especies presa.

Los resultados indican que *F. sparverius* es el depredador más eficiente no encontrándose diferencias de vulnerabilidad entre las presas.

Dado que los depredadores difieren en la frecuencia con que contactan distintas partes del cuerpo de las presas, y que existe una mayor longitud relativa de cola en aquellas presas que realizan autotomía sólo cuando el depredador es de tipo "widely-foraging", un efecto combinado de factores perceptuales y modalidades de alimentación se sugiere para explicar los patrones de ineficiencia entre especies.

Financiado por Proyecto DIUC 086/86

CARACTERIZACION DE RECEPTORES COLINERGICOS EN PROSTATA DE *Chorus giganteus*. (Characterization of Cholinergic receptor in prostate of *Chorus giganteus*). Medina, J.L. Depto. de Ciencias Fisiológicas. Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción. (Patrocinio: M.I. Rudolph).

El estudio de moluscos marinos se ha intensificado debido a la importancia que han adquirido como fuente potencial de proteínas. Esta investigación se ha diseñado con el fin de conocer los mecanismos que participan y regulan la actividad contráctil de la próstata del *Chorus giganteus* (gastropodo, prosobranchio de importancia económica).

Trozos de próstata fueron colocados en un baño de órgano aislado que contenía agua de mar artificial adecuadamente oxigenada (95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>). La actividad contráctil inducida eléctricamente con pulsos de 1.5V, 5 ms de duración y 30 Hz cada 2 min por 5 s fue registrada en un polígrafo Grass-modelo 77, observándose contracciones regulares y reproducibles. Para caracterizar el receptor colinérgico se utilizaron antagonistas muscarínicos (atropina) y nicotínicos (d-tubocurarina).

La actividad contráctil fue modificada por acetilcolina (ACh), efecto que dependió de la concentración de este mediador en el baño de incubación. A dosis bajas de ACh (10<sup>-8</sup> a 10<sup>-6</sup>M) se observó una disminución de la tensión tónica, en cambio la tensión fásica se mantuvo. Por el contrario con concentraciones superiores de ACh (>10<sup>-6</sup> M) se observó un aumento significativo de la tensión tónica y una disminución de la tensión fásica. 10<sup>-6</sup>M atropina o 10<sup>-6</sup>M d-tubocurarina inhibieron el efecto de ACh a dosis altas tanto en la tensión tónica como en la fásica.

Se postula la presencia de receptores colinérgicos que al interactuar con ACh son capaces de regular la actividad contráctil de la próstata, órgano que tiene la función de transportar y favorecer la expulsión de espermatocitos desde la gónada.

Proyecto 20.33.28 Dirección de Investigación, Universidad de Concepción.

"PATTERN" HISTOLOGICO DEL PERIODONCIO DE PROTECCION (P.P) EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL (EP) CRONICA. (Histological pattern from protective periodontium in chronic periodontal disease). Mery, C.; Pizzi, T.; de la Sotta, R.; Espinosa, A. y Zamorano, M. Fac. Medicina y F. Odontología, U. de Chile.

El PP porción de la encía que rodea al cuello dentario, uniéndose a él, ofrece 3 zonas topográficas y fisiológicamente diferentes en su epitelio: epitelios oral, surcular y de unión.

33 biopsias de PP extraídas quirúrgicamente a 17 pacientes con EP crónica incipiente y 16 con modalidad avanzada, rigurosamente diagnosticadas según los parámetros clínicos habituales, fueron técnicamente procesadas para microscopía de luz (cortes  $\mu$ m de grosor, tinción H-E).

99 preparados (3 de c/casos), nos proporcionó un aspecto global característico, un "pattern" sin grandes diferencias entre las distintas muestras.

El epitelio oral mantiene su aspecto normal, con un grado de queratinización moderada, variando en la amplitud y profundidad de las papilas ("rete pegs"). El epitelio surcular (epit. del saco posteriormente) siempre alterado, variando desde una profundización de las "rete pegs" hasta disminución del espesor o necrosis y desaparición del epitelio. Existencia de una marcada vacuolización de las células del estrato de Malpighi y muy frecuente infiltración de PMN en este epitelio alterado y disrupcionado, situación que también afecta al epit. de unión, el cual es prácticamente indiferenciable del surcular.

El tej. conectivo junto al ep. oral mantiene apariencia normal, con focos inflamatorios intersticiales linfoplasmocitarios ocasionales, y frecuente hialinización de grupos de fibras colágenas. El conjuntivo bajo el epit. "surcular" ofrece un infiltrado linfoplasmocitario de mayor o menor intensidad, con una densidad promedio de 436 células por mm<sup>2</sup> en los casos incipientes, y un 56% del linfocitos; en cambio los casos avanzados mostraron una densidad de 720 cels., y una proporción equitativa entre linfocitos y plasmocitos (48% de c/w).

Proyecto N° 34 - CONICYT, 87.

ANALISIS DE CARACTERES MERISTICOS EN *Liolaemus* DE CHILE Y ARGENTINA. (Phenetic analysis of *Liolaemus* from Chile and Argentina). J. Mella\*, E. Pereyra\*\* y M.F. Díaz\*. Dpto. de Ciencias Ecológicas, Fac. de Ciencias, U. de Chile\* e Inst. de Biología Animal, U. Nacional de Cuyo\*\*.

En el género *Liolaemus*, Laurent (1983, 1985) ha reconocido un subgénero (*Liolaemus sensu stricto*) que tiene especies en Chile y/o Argentina. Cabe preguntarse por la homogeneidad de este taxon y la influencia que tendría en este aspecto la distribución de sus especies, separadas por la Cordillera de los Andes.

Se compararon 4 especies de *Liolaemus* s.s. distribuidas sólo en Chile y 4 sólo en Argentina registrándose el valor de 36 caracteres merísticos en 5 machos y 5 hembras de cada una; se calcularon los promedios, rangos y varianzas de los caracteres en cada especie, y las distancias fenéticas entre ellas, construyéndose fenogramas con los métodos WPGMA y UPGMA.

La comparación de promedios revela un gran número de caracteres cuya diferencia no permite distinguir las especies; algunos caracteres permiten diagnosticar a *L. ceii* y *L. gracilis* por sus valores más altos o más bajos y sin superposición de rangos de variación con las restantes especies; algunos caracteres tienen valores menores en *L. gracilis*, *L. altissimus* y *L. nigroviridis*, que en las otras especies; en los fenogramas se constituye este mismo grupo, opuesto a otro que asocia a *L. austroandino*, *L. elongatus*, *L. monticola*, *L. tenuis*, y a mayor distancia *L. ceii*.

*Liolaemus* s.s. no es un taxon homogéneo ya que pueden constituirse grupos al igual como ocurre en análisis bio-métricos de Laurent (1985). Sin embargo, las asociaciones entre especies en nuestro análisis no corresponden exactamente a las que proponen Donoso-Barros (1966) y Laurent (1985). Los dos grupos que revela nuestro análisis no tienen relación con la distribución geográfica de las especies.

Financiado parcialmente por Proj. DIB U Chile N 2209-8733.

IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION DE LOS HONGOS DE LA FUMAGINA QUE INFECTAN CITRICOS. (Identification and characterization of fungi from fumagine that infect Citrus). Mettifogo, S., Aubé, M., Zaldívar, M., Musalem, M., Pérez, L.M. Dep. Biot. Biol. Mol., Fac. Cs. Quím. Farm., Univ. de Chile.

La fumagina infecta a los cítricos produciendo daños diversos. Se identificaron las distintas especies de hongos de la fumagina, de acuerdo a sus características morfológicas en diferentes medios de cultivo. Cada especie se cultivó además en medio líquido de Mandels, adicionado de celulosa ó de pectina. Los géneros *Trichoderma* excretaron celulasa en mayor proporción, mientras que *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger* excretaron pectinasa. Los resultados indican que se inducen solamente las enzimas para la degradación del sustrato.

Se estudió además el comportamiento de estas enzimas frente a diversas variables: no se inhibieron frente a abonos foliares ó fungicidas generales, mantuvieron su actividad frente a cambios bruscos de temperatura y de pH, fueron activadas por tioles, y se pudieron guardar hasta por 8 meses a 4° ó -20°C, manteniendo un 100% de su actividad.

Los resultados indican que las enzimas secretadas por algunos hongos de la fumagina, para la infección de los tejidos de cítricos, presentan una gran estabilidad frente a diferentes agentes usados para el control de plagas agrícolas.

Financiado por proyectos 9/ 87 de FONDECYT y AC/ 3089 International Foundation for Science.

PARTICIPACION DEL LIPOPOLISACARIDO (LPS) DE Thiobacillus ferrooxidans EN EL MECANISMO DE ADHERENCIA A CALCOPIRITA (Thiobacillus ferrooxidans LPS participation in the chalcopyrite adherence mechanism).  
Miquel, A. Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: M. Rodríguez).

*Thiobacillus ferrooxidans* es una bacteria quimio-litotrófica cuyo estudio ha despertado gran interés debido a su utilidad potencial en lixiviación de minerales. Se desarrolla en medios ácidos y obtiene su energía mediante la oxidación de metales o de compuestos de azufre reducido. Experimentos preliminares efectuados en nuestro laboratorio, utilizando LPS purificado de la cepa R2, sugirieron una interacción específica entre dicho componente estructural y granos de calcopirita (2-50  $\mu\text{m}$ ) de alto grado de pureza. En este trabajo se presentan los resultados obtenidos luego de una mejor caracterización del fenómeno de adherencia antes mencionado. Al incubar LPS- $^{51}\text{Cr}$  con calcopirita, la radiactividad asociada al sobrenadante disminuye a la mitad respecto a un control sin mineral, cuando la razón calcopirita-LPS (masa-masa) tiene un valor de 80. La unión de LPS a calcopirita disminuye en una cifra superior al 90%, cuando la mezcla es incubada con anticuerpos policlonales anti LPS preparados en conejo. En estas condiciones, casi la totalidad de la radiactividad es recuperada en el sobrenadante. Considerando que la unión de LPS de *Salmonella typhi* a calcopirita es significativamente menor que la observada para *T. ferrooxidans*, los resultados sugieren que la mayor especificidad exhibida por el LPS de la bacteria litotrófica, podría jugar un importante rol fisiológico en dicho microorganismo.

GLUTATION, GLUTATION S-TRANSFERASA Y  $\gamma$ -GLUTAMILTRANSEPTIDASA EN DIVERSAS CEPAS DE *T. cruzi*. (Glutathione, Glutathione S-transferase and  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase in several strains of *T. cruzi*).  
Moncada, C.; Lipchenca, I.; Kiwi, I.; Monteverde, P.; Letelier, M.E. y Repetto, Y. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

El *Tripanosoma cruzi* es el parásito causante de la enfermedad de Chagas que afecta en nuestro país alrededor de 400.000 personas. No existe en la actualidad, un tratamiento efectivo para esternal. Tanto algunas drogas de uso actual como experimentales, actúan sobre el parásito produciendo metabolitos reducidos del  $\text{O}_2$  como  $\text{O}_2^{\cdot -}$ ,  $\text{OH}^{\cdot}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ . El *T. cruzi* es deficiente en los mecanismos defensivos para eliminar estos compuestos. El glutatión (GSH) participa en una serie de reacciones enzimáticas y no enzimáticas de protección celular eliminando estos productos. En este trabajo se estudiaron el contenido de GSH, las actividades GSH S-transferasa y  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa en diversas cepas de *T. cruzi*. El contenido de GSH se determinó fluorimétricamente y las actividades enzimáticas se siguieron espectrofotométricamente. Se midió el efecto de inhibidores como Butionina sulfoximina (BS) y DON (6-diazo-5-oxo-L-nor-leucina) sobre las actividades enzimáticas y el contenido de GSH. Se estudió también el efecto de drogas antichagásicas como Nifurtimox (Nx) y Benznidazol (Bz) sobre el crecimiento de los parásitos en cultivo el cual se siguió por nefelometría. El contenido de GSH fue 1.6 veces mayor en la cepa LQ que en la cepa T, Cl e Y. La actividad GSH S-transferasa no presentó diferencias significativas entre las cepas. La actividad  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa fue 3.2 veces superior en la cepa T en relación a la cepa LQ. Al inhibir "in vivo" con BS el contenido de GSH disminuyó en un 50% en ambas cepas. La cepa LQ resultó ser más resistente al efecto de Nx y Bz que la cepa T.

Financiado por UNDP/WB/WHO/TDR, por FONDECYT Chile 4-1987 DIB B-1854.

EFFECTOS DE CLOROTETRACICLINA RELACIONADOS CON LA DISTRIBUCION DEL ANTIBIOTICO EN LA MEMBRANA DEL ERITROCITO HUMANO (Distribution related effects of chlorotetracycline in the membrane of human erythrocytes).  
Montalvar, Y., Bonilla, S., Behn, C.  
Depto. Bioquímica y Dpto. Fisiología Normal y Patológica, Fac. Med. Univ. de Valparaíso y Depto. Fisiología y Biofísica, Fac. Med., Univ. de Chile.

A diferencia de clorotetraciclina (CTC), tetraciclina (TC) no induce cambios de forma celular ni salida de  $\text{K}^+$  en el eritrocito humano (Alvarado et al, Arch. Biol. Med. Exp. 19:R-170 1986). Se investiga la posibilidad de diferencias de interacción de CTC y TC con regiones apolares de la membrana mediante espectrofluorimetría. Membranas aisladas por lisis hipoosmótica, reselladas según Bjerrum (0,2 mg prot/mL), se incuban con CTC o TC ( $1 \times 10^{-5}$  mol/L) a diferentes concentraciones de calcio durante 30 min. a 25°C. Se registra el espectro de emisión de los antibióticos excitados a 400 nm. El máximo de emisión a pCa 8,6 fue 500 nm para CTC y TC. La adición de membranas desplaza el máximo de CTC a 512 nm y el de TC a 508 nm. En pCa 3,2 los máximos (512 nm para CTC y 510 nm para TC) no se modificaron al agregar membranas. La relación entre las intensidades de fluorescencia de los antibióticos en presencia y ausencia de membranas a pCa 8,6, 7,2, 4,2 y 3,2 fueron  $15,0 \pm 4,42$  (n=10),  $5,76 \pm 0,41$  (n=4),  $2,36 \pm 0,48$  (n=4) y  $2,28 \pm 0,30$  (n=6) para CTC y  $3,56 \pm 1,28$  (n=14),  $2,36 \pm 1,24$  (n=8),  $1,13 \pm 0,15$  (n=8) y  $1,12 \pm 0,18$  (n=6) para TC. Se concluye que el Cl-C7 determina la acción de CTC sobre el eritrocito humano por favorecer la interacción de la molécula con regiones hidrofóbicas de la membrana. DICT (U.V.) y DIB (U. Ch.).

PRODUCTIVIDAD PRIMARIA EN COMPARTIMENTOS ESPACIALES DEL LAGO KITIESH (ANTARTICA) (Primary productivity in spatial compartments of lake Kitiesh (Antarctic)).  
V. Montecino y G. Pizarro  
Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En enero y febrero, entre 1984 y 1987, se realizaron expediciones al lago Kitiesh (62°S) para estimar fijación de carbono en las comunidades fotosintetizadoras.

La fijación de carbono, por fotosíntesis en la columna de agua, está compartimentalizada cuando la luz alcanza hasta el fondo. Estos compartimentos son fitoplancton y vegetación báltica. Si el lago está cubierto por hielo es necesario considerar también, algas del hielo y de la nieve. La fijación de carbono se cuantificó utilizando un incubador tanto en fitoplancton como en módulos apicales del musgo báltico *Campylopus polygamus*, previa remoción de *Nostoc* sp., cianobacteria asociada a este musgo, cuyo ciclo biótico está en estudio. Los valores de clorofila a total variaron entre 0.8 y 1.1  $\text{mg m}^{-2}$  para algas de la nieve y entre 18.8 y 33.4  $\text{mg m}^{-2}$  para algas en el agua intersticial del hielo; para el fitoplancton de la columna de agua se encontró entre 4.1 y 11.3  $\text{mg Cl a m}^{-2}$  y en los musgos entre 4800 y 10980  $\text{mg Cl a m}^{-2}$ . Este último compartimento fijó entre 6500 y 32000  $\text{mg C m}^{-2} \text{h}^{-1}$  y el fitoplancton entre 6.7 y 32.3  $\text{mg C m}^{-2} \text{h}^{-1}$ . Debido a la elevada biomasa del bentos (21 kg peso fresco) y su gran concentración de pigmentos la mayor parte de la energía que ingresa al sistema lo hace por esta vía.

Proyectos 02 y 038 INACH; 2449 Univ. de Chile.

ASPECTOS MOLECULARES EN LA FORMACION DEL PRONUCLEO MASCULINO EN ERIZO DE MAR. (Molecular aspects of male pronuclei formation in sea urchin). Montecinos, M., Ríos, S., Roco, M., Gamboa, S., Puchi, M. Depto. Biología Molecular. Universidad de Concepción.

Post inseminación (p.i) del óvulo, el núcleo espermático se descondensa para formar el pronúcleo masculino. Este se fusiona con el pronúcleo femenino reestableciendo la dotación cromosómica diploide del embrión.

Con el objeto de estudiar los cambios moleculares que se producen en la formación del pronúcleo masculino se investigó la prevalencia de las proteínas cromosomales no histónicas (Sp NHCP) en cigotos, se determinó además la neosíntesis de NHCP y la presencia de ADP ribosilación hidroxilamina lábil de estas proteínas cromosomales.

Las <sup>3</sup>H-NHCP neosintetizadas fueron determinados por fluorografía de geles de poliacrilamida 12%, SDS 0.1%. Se obtuvo anticuerpos policlonales anti Sp NHCP en conejos que fueron utilizados para Westernblots de NHCP obtenidos de cigotos a los 3, 7, 20 y 30 min p.i. respectivamente. La reacción fue revelada con el sistema streptavidina-peroxidasa biotinilada-HRP color.

La presencia de ADPR ribosa lábil a hidroxilamina fue investigada por comparación electroforética post tratamiento con hidroxilamina 1 M a pH 7.2 y por reacción inmunológica.

Los resultados obtenidos indican que poco después de la fecundación se produce pérdida de las proteínas Sp NHCP y que proteínas neosintetizadas son ensambladas a cromatina. Se detectó además, que algunas proteínas de PM entre 45 y 48 kd están ADP ribosiladas.

Financiado por proyectos 20.31.11, 20.31.17 de Universidad de Concepción y 80/87 FONDECYT.

INVERSION DE LA POTENCIACION POST-TETANICA POR METOXIVERAPAMIL; IMPLICACIONES FUNCIONALES. (Methoxyverapamil-induced inversion of the post-tetanic potentiation; functional implications). Montiel, J., Roblero, J.P. y Huidobro-Toro, J.P. Laboratorio de Farmacología, P. Universidad Católica de Chile.

La estimulación eléctrica transmural de los filetes nerviosos del conducto deferente con trenes de alta frecuencia (15 Hz por 30 sec) superimpuesta a estímulos de 0.15 Hz (70V, 1 msec) provoca en la mitad epididimaria (E) del ductus, potenciación post-tetánica (PPT) con un curso temporal muy definido y característico. En la mitad prostática (P) del conducto se produce en cambio, una inhibición post-tetánica (IPT). Tanto la PPT como la IPT dependen linealmente de la frecuencia y del tiempo de estimulación tetánica. Se estudió el efecto de metoxiverapamil (M) sobre los efectos post-tetánicos en E y P. Se observó que M (0.02-6 µM) produce en E una progresiva disminución de la PPT mientras que se potencia la IPT. La aplicación de 2-6 µM M produce en E una inversión de la PPT transformándola en IPT, con un curso temporal idéntico al registrado en P. La IPT producida en E después de agregar M es antagonizada por BAY K-8644, un agonista de canales de calcio, lo que indica que este efecto es dependiente del influjo de calcio extracelular. La IPT inducida por M es totalmente antagonizada por 2-10 µM estrofinina tanto en E como P demostrando que las características de la IPT en E y P son similares. El efecto de M es cualitativamente similar a nifedipina, excepto que no se produce la inversión de la PPT. Se concluye que la expresión de los fenómenos post-tetánicos dependen del influjo de calcio y que éstos varían en E y P. Complementando una hipótesis anterior de nuestro Laboratorio, se plantea ahora que una distribución asimétrica de canales de calcio a lo largo del conducto la que sería en parte responsable de la PPT y la IPT.

Proyecto DIUC 74/96.

INHIBICION DE LA FUSION PALATINA IN VITRO POR INDOMETACINA, EN DOS CEPAS DE RATON. (Indomethacin inhibition of palatal fusion in vitro, in two strains of mice). Montenegro, M.A., Jara, C., Cauvi, D. y Palomino, H. Deptos Morfología Exp. y Biología Celular y Genética. Fac. de Medicina. U. de Chile.

Existen diferencias en la susceptibilidad a la fusión palatina inducida por glucocorticoides (GC) entre distintas cepas de ratón (Ej: A/J, A/Sn, B/10, C/57); las cepas susceptibles tienen mayor cantidad de receptores de GC.

Este trabajo analiza el efecto de Indometacina (inhibidor de la síntesis de prostaglandinas PG), en la fusión de los procesos palatinos in vitro en dos cepas de ratón de diferente susceptibilidad.

Se utilizaron hembras grávidas de ratón de las cepas A/Sn (susceptible) y B/10 (resistente). Se diseccionaron los procesos palatinos de embriones de 13 días de gestación y se cultivaron 72 h. a 38°C en medio de cultivo normal o que contenía la droga (50µg). El material fue procesado para MO y ME.

La Indometacina inhibe la fusión de los procesos palatinos in vitro en ambas cepas, pero en la cepa A/Sn existe una significativa mayor frecuencia de no fusionados. En la cepa B/10, se observa también una mayor frecuencia de no fusión en relación a los controles, aunque estas diferencias no alcanzan la significación estadística. En ambas cepas se produce la inhibición de la muerte celular programada que ocurre normalmente ya que el epitelio palatino medio persiste intacto.

Estos resultados demuestran que existe también una diferente susceptibilidad a la producción de fisuras por Indometacina, lo que estaría indicando que las PG están involucradas en la diferente susceptibilidad. Los distintos niveles de PG estarían dados por diferencias genéticas similares a las que controlan los receptores de GC.

Proyecto DIB 2368-8725. U. de Chile y 0455 de FONDECYT.

ANTAGONISMO ENTRE PENTAFLOROFENOL (PCP) y 3,4-DIAMINOPIRIDINA (3,4-DAP) EN LA SINAPSIS NEUROMUSCULAR. (Antagonism between PCP and 3,4-DAP at the neuromuscular junction). Montoya, G.A., Villena, F., Pezo, P., Bourras, C. Depto. de Ciencias Fisiológicas y Depto. de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

En un trabajo anterior, demostramos con métodos electrofisiológicos y técnicas de registro extracelular, el efecto bloqueador, neurotóxico, irreversible, del PCP en la conducción axonal del nervio ciático y en la sinapsis del VIII ganglio simpático del sapo "Caudiverbera-caudiverbera".

En la presente comunicación demostramos el efecto del PCP en la sinapsis neuromuscular del batracio "Pleuriderma thaul" con técnicas electrofisiológicas convencionales de registro intracelular. El PCP bloquea el potencial de placa motora de un modo dependiente de la concentración (0,003-0,1 mM) y del tiempo de exposición cuando la preparación ciático-sartorio "in vitro" es superfundida previamente con 0,005 mM de d-tubocurarina o con solución Ringer modificada por baja concentración de Ca++ (1 mM) y alta concentración de Mg++ (10 mM). La 3,4-DAP (0,005 mM) antagoniza el bloqueo del potencial de placa motora en ambos casos. En fibras musculares tratadas con formamida en concentraciones que impiden el acoplamiento excitación-contracción el PCP bloquea el potencial de acción intracelular. También hemos estudiado los efectos farmacológicos y tóxicos del PCP sobre la liberación espontánea de neurotransmisor mediante el registro de la frecuencia y amplitud de los micropotenciales.

Financiado por la Dirección de Investigación. Proyecto N°20.36.02. Universidad de Concepción.

VARIACIONES EN LA RESPUESTA A ANFETAMINA A TRAVÉS DEL CICLO ESTRAL DE LA RATA. (Variations in the response to amphetamine across rat estrous cycle. Mora, S. y Afani, A. Departamento Preclínicas División Ciencias Médicas Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Diversas evidencias indican que la actividad de dopamina cerebral varía a través del ciclo estral de la rata. El presente trabajo tiene por objeto estudiar posibles variaciones en la respuesta frente al agonista dopaminérgico anfetamina, dependientes del ciclo estral.

Se utilizaron ratas Sprague-Dawley hembras de aproximadamente 200 gr., estableciéndose 4 grupos experimentales: Diestro, Proestro, Estro y Metaestro, determinados a través de frotis vaginal. La actividad motora espontánea se registró colocando cada animal en un monitor de actividad durante 30 minutos. Durante este período se registraron además las siguientes conductas: levantadas, sacudidas de cabeza y tiempo de limpieza. Inmediatamente después los animales fueron sometidos a una sesión de adquisición de respuestas condicionadas de evitación activa en la cual cada animal recibió 50 ensayos. 30 minutos antes de ambos ensayos, los animales fueron inyectados con anfetamina (0,25 y 1 mg/Kg) o salina IP.

Los resultados indican que existen variaciones conductuales a través del ciclo estral de las ratas control, particularmente en las etapas de estro y metaestro. Los efectos estimulantes de anfetamina sobre algunas de las conductas estudiadas varían según la etapa del ciclo, confirmando la hipótesis que la reactividad dopaminérgica en el cerebro de la rata hembra es dependiente de los niveles de hormonas del eje hipotálamo-hipófisis-ovario.

Proyecto B- 2707 - 8713, DIB, Universidad de Chile.

GENES LIGADOS AL SEXO CONTROLAN GEOTAXIS Y FOTOTAXIS EN LARVAS DE *D. melanogaster* (Sex-linked genes control geotaxis and phototaxis in *D. melanogaster* larvae). Mora, W., Escuela de Psicología, Universidad Diego Portales.

En estudios anteriores se ha postulado un control genético sobre geotaxis en larvas de *D. melanogaster*, pero se desconocía exactamente el rol de la luz en los experimentos descritos.

Se registró la dispersión de larvas Oregon R-C con el estado I del desarrollo (24 horas) sobre una superficie de agar vertical iluminada lateralmente. También se midió la dispersión en oscuridad con larvas de diferentes edades, anotando conducta y sexo.

Los resultados revelaron que en el estado I la orientación depende de la luz, no de la gravedad. A edades posteriores la orientación es geopositiva y no se correlaciona con el "peso"; además, aunque la varianza explicada sería pequeña, hay interacción geotaxis x sexo.

Estos resultados y otros anteriores apoyan la hipótesis de que existen al menos un par de genes ligados al cromosoma X, que independientemente participan en el control de geotaxis y fototaxis larval. Además, apoyan la tesis de una determinación estructural del comportamiento, en desmedro de las nociones de información y función.

Financiado por la Universidad Diego Portales y aportes de Raúl Godoy Herrera.

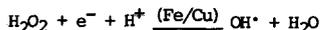
ACCION DEPOLARIZANTE DEL PEROXIDO DE HIDROGENO SOBRE MUSCULO ESTRIADO (Depolarizing action of hydrogen peroxide on the skeletal muscle). Morales, B., Quevedo, I., Eirsen, M., Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción \*.

El peróxido de hidrógeno es utilizado comúnmente en clínica como hemostático en especial en neurocirugía. Por otra parte, se ha descrito como un agente tóxico para varios tipos celulares (eritrocitos, fibroblastos, células tumorales, etc.) debido probablemente, a su capacidad de generar radicales hidroxilos en presencia de sales de Cu/ o Fe, los que producirían peroxidación lipídica de los fosfolípidos de la membrana celular. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sobre el potencial de membrana (P<sub>m</sub>) de fibras musculares de sartorio del *Pleurodena thaul* y visualizar su posible peroxidación por este compuesto.

Los sartorios aislados fueron mantenidos en una cámara de registro, a pH 7,3, en una solución Ringer-rana conteniendo cantidades variables de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (8.8 x 10<sup>-4</sup>M, 8.8 x 10<sup>-3</sup>M, 4.4 x 10<sup>-2</sup>M, y 8.8 x 10<sup>-2</sup>M). El P<sub>m</sub> se visualizó en un osciloscopio Textronix y la peroxidación lipídica mediante la determinación de malonaldehído por la técnica del ácido tiobarbitúrico.

Los resultados muestran una disminución significativa dosis dependiente, del P<sub>m</sub>, cuyos efectos máximos se obtienen entre los 60 y 90 minutos y una producción también dosis dependiente muy significativa de malonaldehído.

Estos resultados podrían deberse a una alteración de la permeabilidad a cationes en la membrana de las fibras musculares por peroxidación lipídica de sus fosfolípidos, como resultado de la formación de radicales hidroxilos a partir del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de acuerdo a la siguiente reacción:



Proyecto 20.33.23. D.I. U. de Concepción.

AUMENTO DE PROGESTERONA (P) ENDOGENA EXPLICA FALTA DE RESPUESTA DE EFECTORES PERIFERICOS A CIERTAS FORMAS DE ADMINISTRAR ESTRADIOL (E<sub>2</sub>). (Increased progesterone (P) explains lack of response of peripheral targets to certain form of estrogen (E<sub>2</sub>) treatment).

Morán, F.M., Forcelledo, M.L. Laboratorio de Endocrinología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

La administración sc de 5ug de E<sub>2</sub> produce un paso prematuro de embriones al útero; en cambio la infusión iv rápida (<50 min) de esta misma masa de E<sub>2</sub> no altera el transporte de embriones. Esta infusión iv rápida produce un aumento al doble del nivel plasmático de P. Se sabe además, que P antagoniza algunos efectos del E<sub>2</sub>. El objetivo del presente trabajo fue determinar si el alza de P observada luego de una infusión rápida de E<sub>2</sub> es responsable de que este estímulo estrogénico no acelere el transporte de embriones.

Ratas en día 1 de preñez fueron hipofisectomizadas (HPX) para impedir el alza de P, o inyectadas con 4mg de RU486 para bloquear el receptor de P, previo a la infusión iv rápida de 5ug de E<sub>2</sub> o su vehículo. 24h después se autopsiaron para determinar número de embriones en oviducto. En ratas HPX se obtuvo muestras de sangre a los 0, 10, 60 y 180 min de iniciada la infusión para determinar niveles plasmáticos de P por RIA. En ratas HPX o tratadas con RU486, la infusión rápida de 5ug de E<sub>2</sub> disminuyó el número de embriones recuperados del oviducto. En ratas HPX no se observó alza de P.

Se concluye que el alza de P provocada por la infusión rápida de E<sub>2</sub> es responsable de la falta de aceleración del transporte ovular ante este estímulo estrogénico.

RF-86020. DIUC 93/85

INTERACCIONES FARMACOCINETICAS DE ANTIBIOTICOS Y ETANOL. (Pharmacokinetics interactions between antibiotics and ethanol). Morasso, I. Chávez, J. y Arancibia, A. Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Las modificaciones bioquímicas y fisiológicas que produce el etanol en el organismo, pueden alterar los fenómenos de absorción, distribución, metabolización y/o excreción de los medicamentos.

En el presente trabajo, se estudió el efecto del alcohol en la farmacocinética de los antibióticos Amoxicilina y Eritromicina etil succinato.

Ambos estudios se realizaron con la participación de ocho voluntarios sanos, que recibieron en ocasiones separadas, dosis de 500 mg. del antibiótico, ingiriéndolo con agua y pisco sour. Los antibióticos se valoraron por un método microbiológico. Los parámetros farmacocinéticos que se determinaron fueron: C máx, t pico, área bajo la curva de concentración plasmática versus tiempo, vida media y constante de velocidad de absorción y tiempo medio de residencia.

Los resultados se analizaron estadísticamente empleando análisis de varianza y el test de Dunnet.

De los resultados obtenidos, se aprecia que el etanol produce un retardo en la absorción tanto para Amoxicilina como Eritromicina etil succinato.

Proyecto DIB 2.500-8724

DIFERENCIAS EN EL NIVEL DE GERMINACION DE SEMILLAS DE POBLACIONES DE Atriplex repanda Phil. (Differences in seed germination level in population of Atriplex repanda Phil.) Moreno, R.J., Gutiérrez, J.R. y Aguilera, L. Depto. Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena.

La dormancia de semillas es un mecanismo que optimiza la distribución de la germinación en el tiempo y en el espacio, contribuyendo al establecimiento de las plantas en medios con factores restrictivos acentuados.

Atriplex repanda Phil., especie arbustiva con potencial forrajero, tiene una germinación natural que no supera el 2%, limitada por la dormancia relativa de sus frutos nuciformes que responden a factores como la edad, la luz, la temperatura y la salinidad.

Se determinó la germinación de semillas escarificadas de 10 poblaciones de A. repanda, en muestras de suelo de cada una de las localidades, con el objeto de detectar posibles diferencias interprovinciales para este carácter. Se analizó el efecto del factor población, suelo y su interacción.

Las semillas de las diferentes poblaciones muestran un patrón de germinación semejante en los diferentes suelos, pero difirieron significativamente entre sí en los niveles de germinación que variaron entre 8.6 a 40%. El porcentaje de semillas germinadas de las distintas poblaciones aumentó significativamente en el suelo de Andacollo que presenta la mayor salinidad y el más alto contenido de Cu.

Los resultados sugieren una diferenciación genética de los niveles de dormancia de las poblaciones analizadas.

RADICALES LIBRES DEL OXIGENO EN EL DAÑO DE LAS EXTREMIDADES DE RATAS SOMETIDAS A ENFRIAMIENTO SEVERO. (Oxygen-derived free radical injury to hind-limbs of rats subjected to extreme low temperatures). Moreno, M., Manríquez, V., Ward, P.H. y Vivaldi, E. Depto. Cs. Fisiológicas, Fac. Cs. Biológicas y Rec. Nat., Universidad de Concepción.

El enfriamiento severo de las extremidades produce un cuadro clínico conocido como "frostbite" caracterizado por presencia de edema agudo y necrosis. Durante el enfriamiento se visualiza una hipoperfusión de las extremidades seguida de reperfusión posterior a la normalización de la temperatura del órgano. Se ha demostrado la participación de radicales libres del oxígeno (RLO) en numerosos procesos patológicos consecuentes a episodios de isquemia seguidos de reperfusión.

Hemos estudiado la participación de los RLO en el daño de las patas traseras de ratas sometidas a enfriamiento severo. Ratas adultas (Sprague-Dowley, 250-350 g) fueron separadas en tres grupos. I: control sin tratamiento; II: recibió tres dosis de alopurinol (40 mg/kg, IP) 2, 1 y 0 hrs antes de enfriamiento; III: recibió superóxido dismutasa y catalasa (20 mg/kg, IP) 2 hrs antes. Los tres grupos fueron sometidos a enfriamiento a -20°C por 2 hrs, de tal forma que sus patas traseras permanecieran apoyadas sobre una superficie de hielo y luego fueron dejadas a temperatura ambiente.

Dos horas después de la experiencia, se observa en las patas traseras de los tres grupos hiperemia y edema severo. Sin embargo, 20 hrs después el edema es claramente menor en los grupos II y III, lo que permite postular que los RLO participarían en la etiopatogenia de esta lesión.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT N° 0059/1987

MICROHETEROGENEIDAD DE HISTONAS ESPERMATICAS: ARTEFACTOS CAUSADOS POR OXIDACION. (Microheterogeneity of sea urchin specific histones: Artefacts due to oxidation). Morín, V., Merino, V., Gutiérrez, S., y Massone, R. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

En espermatozoides de erizo de mar Tetrapygus niger se ha detectado previamente microheterogeneidad de histonas H2B, H3 y H4 al ser analizadas por electroforesis bidimensional. La histona H4 fue resuelta en 7 fracciones que difieren en su migración electroforética.

Con el objeto de investigar los posibles artefactos causados por la presencia de subformas oxidadas, se compararon los perfiles electroforéticos de histonas totales aisladas en presencia de ácido tioglicólico y en ausencia de este agente.

Se observó que la histona H4 presenta sólo dos variantes en condiciones de reducción, en contraposición de las siete variantes detectadas al utilizar los sistemas clásicos de purificación. Estas dos variantes fueron purificadas por electroforesis preparativa en dos etapas utilizando geles de poliacrilamida (PAG) 12% p/v urea/ácido acético/Tritón DF16 en primera dimensión y PAG 15% urea/ácido acético/Tritón X-100 en segunda dimensión. A las variantes H4A y H4B se les determinó su composición aminoacídica.

Por otra parte no se detectó diferencias tan significativas en el número de variantes de H3 y H2B siendo estas 2 y 3 respectivamente.

Financiado por Proyectos 20.31.11 y 20.31.17 de la Universidad de Concepción y Proyecto 80/87 FONDECYT.

VIAS DE SALIDA DE LA INFORMACION DE ROTACION EVOCADA DESDE EL NUCLEO CAUDADO Y LA SUBSTANCIA NEGRA RETICULAR. (Output pathways of turning behavior evoked from the caudate nucleus and substantia nigra reticulata). Moties, E., Saavedra, H., Gonzalez, M. y Lay-Son, L. Departamento de Preclínicas, División Ciencias Médicas Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El objetivo de este trabajo es determinar la importancia relativa de las vías: a.- substancia negra reticular (SNR)-colículo superior (CS) y b.- SNR-núcleo ventralis medialis del tálamo (VM), como salidas de la información de rotación que se genera en el núcleo caudado (NC) y pasa por la SNR. En un modelo experimental, se implantaron electrodos en el NC, SNR y CS de 22 gatos adultos. Después de 4 sesiones de estimulación eléctrica en las que se determinó umbrales de intensidad de corriente necesarios para producir rotación, se electrocoaguló el CS. Luego los animales fueron sometidos a otras 4 sesiones de estimulación, observándose variación de umbrales y conducta. En un 2º modelo, se operaron 18 animales; se empleó el mismo procedimiento pero se implantó y lesionó el VM, en vez del CS.

En el primer diseño, después de la lesión del CS, desaparecieron las respuestas de rotación en el 94 % de las estimulaciones practicadas en la SNR y en el 61 % de las administradas en el NC. En el 2º diseño, los valores respectivos fueron 25 y 22 % respectivamente. Puede concluirse que la mayor parte de la información sobre rotación generada en el NC y que pasa por la SNR, llega al CS, siendo un mínimo la que cursa por el VM.

INTERACCION DE GUANABENZ Y CLONIDINA EN LA NARCOSIS POR ETANOL EN RATONES. (Interaction of Guanabenz and Clonidine on ethanol narcosis in mice). Muñoz, C., Ruiz, M. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

En diversos trabajos hemos mostrado que la serotonina (5-HT) favorece la acción depresora del etanol en el SNC, mientras que la noradrenalina (NA) tiene un efecto opuesto. De acuerdo con esta hipótesis, el Guanabenz (GBZ) y la Clonidina (CLO), fármacos que estimulan receptores alfa-adrenérgicos presinápticos y como consecuencia reducen la síntesis y liberación de NA en el sistema nervioso central, deberían aumentar la acción depresora del etanol. Con este objeto se estudia la interacción de ambos fármacos en la duración de la narcosis por etanol (3,75 g/kg i.p.) en ratones tanto normales como pretratados con el inhibidor de la biosíntesis de catecolaminas alfa-metil-p-tirosina (AMPT, 250 mg/kg i.p.), o con p-clorofenilalanina (PCPA, 316 mg/kg i.p.) que inhibe la síntesis de 5-HT. Se compara con la interacción de GBZ y CLO en la narcosis por pentobarbital (50 mg/kg i.p.).

El GBZ, en dosis de 0.25, 0.5 y 1.0 mg/kg i.p. aumentó significativamente la duración de la narcosis por etanol. En dosis de 0.25 mg/kg aumentó también este efecto en animales tratados con AMPT pero no en los pretratados con PCPA. La CLO en dosis de 0.125 mg/kg i.p. prolongó significativamente la narcosis por etanol, pero no la modificó en los tratados con AMPT. El PCPA redujo significativamente el efecto de la CLO. Tanto CLO como GBZ aumentaron significativamente la duración de la narcosis por pentobarbital. AMPT y PCPA no modifican este efecto del pentobarbital.

Estos resultados confirman que CLO y GBZ tienen un efecto depresor del SNC, mientras los resultados con AMPT y PCPA refuerzan la hipótesis que la NA disminuye la narcosis por etanol y la 5-HT la favorece.

(Con ayuda del Departamento de Investigación y Bibliotecas, Universidad de Chile, Proyecto B.2373-8723).

DIVERSIDAD DE MICROMAMIFEROS EN UN RODAL DE *Pinus radiata* EN LA VIII REGION DE CHILE. (Small mammals diversity in a *Pinus radiata* plantation in the VIII Region of Chile). Muñoz, A., R. Murrúa y C. Jofré. Dpto. CC. NN., Universidad Católica de Chile, Sede Regional, Temuco/Instituto Ecología y Evolución, Universidad Austral de Chile.

Se estima que el monocultivo silvícola ha generado múltiples alteraciones ambientales, simplificando el número de relaciones ecológicas, con la consecuente variación en la diversidad y abundancia de las especies, modificando los mecanismos de regulación de las poblaciones.

En Burca, VIII Región (36°32'S, 72°55'O) se instalaron dos retículos con trampas Sherman en un rodal de *P. radiata* y en un matorral de renovales de bosque nativo.

Se realizaron censos mensuales durante 18 meses con el objeto de determinar la diversidad y abundancia de micromamíferos. Mediante los índices de Shannon Wiener se calculó la diversidad de micromamíferos (H'M), la diversidad de la vegetación (H'V) y la diversidad de la altura de follaje (DAF) según MacArthur y MacArthur, 1961.

En el matorral los resultados fueron H'M=2,071 con un H'V=0,830 y un DAF=0,664 y en el rodal de *P. radiata*: H'M=1,178 con un H'V=0,259 y un DAF=0,660. La abundancia fue mayor en el matorral.

La mayor diversidad y abundancia del matorral se explica por la heterogeneidad espacial y la productividad, que se expresa por la cantidad de recursos alimentarios y refugios disponibles.

Financiado parcialmente por CONAF y Empresas Forestales.

CAMBIOS TERMOTROPICOS EN MEMBRANAS DE *MYCOPLASMA CANADENSE*. (Thermotropic changes in membranes of *Mycoplasma canadense*). Muñoz, G. y Sotomayor, P.\* Instituto de Biología, Instituto de Química\*, Universidad Católica de Valparaíso. (Patrocinio: S. Marshall).

*Mycoplasma canadense* cultivado a 37°C en medio libre de suero presenta cambios termotrópicos en el estado físico de la membrana celular para células en fase exponencial tardía de crecimiento. Estos cambios se refieren a una separación lateral de fase que se relaciona con la composición de ácidos grasos de las cadenas acílicas de lípidos de membrana y con el estado fisiológico de la célula. Al cambiar la fase de crecimiento ocurre una mayor incorporación de ácido palmítico y aumenta la densidad de las membranas, características que se relacionan con una matriz lipídica más rígida y son condiciones que favorecen un cambio de estado de fase frente a la temperatura.

Estudios realizados con liposomas muestran una separación lateral de fase para células en fase exponencial media de crecimiento, indicando que el estado físico de la bicapa aunque depende de su composición lipídica también estaría modulada por la distribución de sus componentes y por las proteínas de membrana.

Los cambios termotrópicos en membranas de *M. canadense* y sus liposomas se estudiaron mediante la técnica de polarización de fluorescencia.

EFFECTOS DEL TAMAÑO COLONIAL EN LA TASA METABOLICA DE Cauloramphus spiniferum (BRYOZOA). (Effects of colony size on metabolic rate of Cauloramphus spiniferum (Bryozoa)), Muñoz, M.R. y Cancino, J.M. Depto. de Biología Ambiental y de Poblaciones, Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Existe abundante información respecto a la relación entre tasa metabólica (T.M.) y tamaño corporal (W.) en organismos unitarios, pero se sabe poco de esta relación en organismos coloniales, los cuales crecen por adición de unidades genéticamente idénticas y parcialmente autosuficientes. En organismos no coloniales T.M. es una función alométrica de W.

En el presente trabajo se evalúa la tasa de filtración y el consumo de oxígeno de colonias de Cauloramphus spiniferum, en un rango de tamaño colonial de 2 a 550 zooides por colonia. Se establece que la tasa de filtración tiene una relación alométrica con el tamaño colonial es decir, la tasa de filtración por zooides disminuye al aumentar el tamaño colonial con un exponente de  $-0.28 \pm 0.06$ ,  $P = 0.0013$ . Por su parte, el consumo de oxígeno por zooides (en colonias inactivas), se mantiene independiente del tamaño colonial ( $b = -2.8 \times 10^{-7} \pm 7 \times 10^{-7}$ ,  $P = 0.71$ ), pero el consumo de oxígeno por zooides activo decrece al aumentar el tamaño de la colonia ( $b = -0.63 \pm 0.10$ ,  $P = 0.00026$ ). Los resultados de este trabajo indican que el metabolismo activo de las colonias no es simplemente la suma de T.M. de cada uno de los zooides constituyentes de la colonia. Esto sugiere que existen propiedades emergentes de la organización colonial, que a nivel fisiológico se traducen en una relación alométrica entre tasa metabólica activa y tamaño colonial. Financ. Proy. FONDECYT 1052/86

EFFECTO DE ACETILCOLINA EN LA SECRECIÓN DE CORTICOIDES. (Acetylcholine effect on corticosteroids secretion). Muñoz, S., Michea, L., Paladines, P., Vicencio, C. y Marusic, E.T. Depto. de Fisiología y Biofísica, Fac. de Medicina, Universidad de Chile.

En el presente trabajo se estudió el efecto de pulsos de acetilcolina en la secreción de cortisol, como una forma de detectar una posible participación del sistema simpático en la secreción de corticoides. Con este objeto se utilizó una preparación de glándula adrenal perfundida "in situ" empleándose gatos machos de un peso de 3 a 3,5 kg que fueron anestesiados con Nembutal. La glándula se perfundió vía aorta con Krebs-Ringer-Bicarbonato a través de una bomba peristáltica y se recolectaron muestras seriadas desde la vena lumbodrenal. La secreción de cortisol se midió en condiciones basales y se estimuló con acetilcolina  $10^{-5}$  M en pulsos de 5 minutos. Este fármaco produjo un significativo aumento en la secreción de cortisol de  $338 \pm 55$  ng/min a  $736 \pm 176$  ng/min ( $p < 0.05$ ). Con el objeto de estudiar la participación de receptores muscarínicos y nicotínicos en el efecto de acetilcolina en la secreción de corticoides, se procedió a infundir pulsos de atropina y hexametonio en diferentes protocolos; los resultados demuestran que el aumento de la secreción de cortisol bajo el estímulo de acetilcolina es bloqueado por atropina, y no así por hexametonio. En conclusión, acetilcolina es capaz de modificar la secreción de glucocorticoides y el efecto seña vía receptores muscarínicos. (Proyecto FONDECYT 0815-86).

EL Na<sup>+</sup> EXTERNO MODULA LA CINÉTICA DEL CANAL DE Na<sup>+</sup> DE MUSCULO ESQUELETICO DE RANA INCORPORADO A BICAPAS. (External Na<sup>+</sup> modulates the kinetics of Na<sup>+</sup> channel from frog skeletal muscle incorporated into planar bilayers).

Haranjo D. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, U. de Chile y Centro de Estudios Científicos de Santiago.

La cinética de las corrientes de Na<sup>+</sup> en distintas preparaciones es afectada por la concentración iónica del medio externo, este trabajo pretende comprender este fenómeno estudiando el comportamiento de canales individuales. El canal de Na<sup>+</sup> del túbulo transversal de músculo esquelético de C. caudiververa ha sido incorporado a bicapas de fosfolípidos neutros en presencia de Batracotoxina y 0,2 M NaCl. En estas condiciones el canal fluctúa entre dos estados de conductancia: abierto (conductor) y cerrado (no conductor). Cinéticamente se distingue una sola conformación abierta y dos cerradas, una breve (asegs.) y la otra de mayor duración (segs.). La curva de activación de la cinética rápida se construye analizando la fracción del tiempo en que el canal permanece abierto (Po) como función del potencial eléctrico aplicado a través de la bicapa (medido con respecto al lado externo del canal). Po es 0,5 a -100 mV y +1 a -60 mV. Al aumentar la concentración de Na<sup>+</sup> externo de 0,2 a 0,4 M la curva de activación se desplaza +8 mV en forma paralela al eje del potencial. Se muestra que este desplazamiento es producido porque al aumentar la concentración de Na<sup>+</sup> externo los tiempos promedios de permanencia en el estado cerrado se prolongan, en cambio los tiempos promedios de permanencia en el estado abierto no se modifican. Estos resultados sugieren que el canal cerrado tiene en su superficie externa una carga negativa que al ligar un catión lo estabiliza en ese estado.

Financiado por NIN, proyecto GM35981 y Fundación Tinker

ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS GLANDULAS ADRENALES DE Octodon degus Y RATA Donjou ADULTAS (Comparative study of the adrenals in adult Octodon degus and Donjou rat). Naretto, E. y Morales, B. Depto. de Morfología Experimental, Div. Ciencias Médicas Norte, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las glándulas adrenales son de vital importancia para la supervivencia y la respuesta a situaciones de stress. Estudios farmacológicos realizados comparando las respuestas adrenérgicas entre la rata y el "degu", han demostrado una mayor capacidad de respuesta para este último roedor silvestre. Por ello nos pareció interesante realizar un estudio comparativo de las adrenales de estas 2 especies.

Se utilizaron 6 hembras Donjou y 11 hembras "degu" adultas, luego de pesadas, fueron sacrificadas, diseccionándose las adrenales, que fueron pesadas, medidas y procesadas para técnica histológica corriente. En los cortes de la glándula se midió el espesor de la corteza, el diámetro mayor y menor de la médula y el diámetro citoplasmático mayor de las simpátogonias. Las adrenales del "degu" presentan un mayor valor en todos los índices analizados. Morfológicamente presenta una zona glomerular más definida que la observada en la rata y además la médula de la adrenal derecha del "degu" presenta una amplia conexión con la pared de la vena cava.

Estos resultados permitirían explicar en parte la pasividad y poca agresividad de la rata, lo cual contrasta con el "degu" que es un animal inquieto, en alerta permanente, pronto a saltar y de movimientos y respuestas muy rápidas, características vitales para su supervivencia ante los depredadores en la vida silvestre y que no se han perdido con el cautiverio.

XANTINAS Y EFECTO CARDIOESTIMULANTE DE MILRINONA. (Xanthines and cardiac stimulant effect of milrinone). Neira, S., Selman, R. y Penna, C.L. Departamento de Farmacología, Fac. de Medicina, U. de Chile. (Patrocinio: M. Penna).

La milrinona es un agente inotrópico que bloquea el flogodiestérasa; estudiamos su interacción con dos xantinas que difieren en su acción sobre receptores de adenosina.

En preparación de aurícula aislada (AA) de rata la teofilina (30  $\mu$ M) produjo un aumento de la frecuencia espontánea de 10,3 + 1,1% en relación a la basal, pero no modificó el efecto cronotrópico positivo de milrinona. En aurículas izquierdas eléctricamente dirigidas (n=17) la teofilina (30  $\mu$ M) produjo un ligero aumento de la TD de 5,9 + 1% sin aparición de automatismo. En presencia de teofilina, dosis acumulativas de milrinona hasta 70  $\mu$ g/ml produjeron un aumento progresivo de la TD que no difirió de las testigos en ausencia de teofilina. Sin embargo, concentraciones de milrinona  $\geq$  de 30  $\mu$ g/ml en presencia de teofilina produjeron aparición de automatismo dosis-dependiente, de tal manera que se observó correlación positiva ( $r = +0,93$ ;  $p < 0,01$ ) entre el número de casos con automatismo y las concentraciones crecientes de milrinona. En el grupo testigo (n = 17) con concentraciones similares de milrinona sola no se observó aparición de automatismo.

En aurículas izquierdas eléctricamente dirigidas la incubación con enprofilina (50  $\mu$ M), xantina análoga a la teofilina que no bloquea receptores de adenosina, produjo un aumento de TD de 30,2 + 3,24%; este efecto aumentó con dosis acumulativas de milrinona pero no se observó aparición de automatismo.

La incubación previa de AA de rata con adenosina produjo una disminución de la pendiente de la curva dosis-efecto de milrinona en relación a los testigos. Los resultados sugieren la participación de receptores de adenosina en los efectos de milrinona.

Financiado por Proyectos N° 0472 de FONDECYT y B 2860-8715 del DIB, Universidad de Chile.

SEROTONINA: CARACTERIZACIÓN DE SUS EFECTOS EN MÚSCULO UTERINO DE RATÓN. (Serotonin: Characterization of its effects in mice uterus). Neumann, V. y Harbst, H. Departamento de Cs. Fisiológicas, Facultad de Cs. Biológicas y de Recursos Naturales. U. de Concepción.

Serotonina (5-HT), que se encuentra en concentraciones elevadas en las células cebadas del tejido uterino en ratas, induce respuesta contráctil en útero de rata. No obstante, su rol funcional sobre la contractilidad uterina aún no ha sido establecido.

En este trabajo se analiza el efecto de 5-HT en distintas etapas del ciclo estral del ratón, entregando además algunas evidencias que contribuyan a la caracterización del receptor serotoninérgico involucrado. Se trabajó con el órgano aislado, en solución Jalón con oxigenación continua y estimulando el tejido con pulsos eléctricos de 2 mseg, frecuencia 30 Hz, voltaje supramáximo, con el fin de lograr contracciones reproducibles y constantes, las cuales son modificadas por la adición de 5-HT y sus antagonistas.

Se observó que 5-HT aumenta en forma dosis dependiente (0,01-1  $\mu$ M) la amplitud y la frecuencia de las contracciones fásicas, siendo la respuesta contráctil en estro metaestro diestro. A altas dosis de 5-HT (0,1  $\mu$ M) aumenta además la contracción tónica del cuerno uterino. Ketanserina (bloqueador 5-HT<sub>2</sub>), a dosis  $\leq$  10  $\mu$ M, inhibe el aumento de la frecuencia y la contracción tónica inducida por 5-HT, lo que sugiere que en dicha respuesta estarían implicados receptores 5-HT<sub>2</sub>.

Proyecto Dirección Investigación 20.33.28, Universidad de Concepción.

LA RATA COMO MODELO PARA ESTUDIAR LAS FUNCIONES DE LA GLOBULINA LIGANTE DE TESTOSTERONA Y ESTRADIOL. (The female rat as a model to study the functions of Testosterone-Estradiol Binding Globulin). Noé, G., Croxatto, H. B., Bardín, W.C.\*, Cheng, Y.\*.- Laboratorio Endocrinología, Facultad Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. \* The Population Council, New York, USA. La rata hembra adulta no tiene una proteína plasmática que ligue estradiol (E2) con una especificidad y afinidad comparable a la globulina ligante de testosterona y estradiol (TeBG), por lo cual se presta para estudiar la influencia de la hTeBG purificada sobre la farmacocinética del E2.

El análisis de la velocidad de depuración plasmática de 30  $\mu$ g de hTeBG inyectado endovenoso indica la presencia de dos componentes con vidas medias de 2,3 y 15 h. La detección del hTeBG se hizo por RIA. Además usando E2 como ligando se demostró que la hTeBG inyectada mantiene su actividad ligante por al menos 8 h, sin embargo su presencia en circulación no se tradujo ni en un aumento del nivel ni en una disminución de la depuración plasmática de E2. Para contrarrestar la interferencia de la alta concentración de andrógenos circulantes, el efecto de la hTeBG sobre los niveles plasmáticos de E2 se estudió en ratas durante una infusión continua de E2 40 ng/h.

Las ratas tratadas con hTeBG mostraron un mayor aumento en los niveles de E2 2 h después de iniciada la infusión, este efecto desapareció a las 8 h. Utilizando 3H E2 como trazador se encontró que la hTeBG aumenta en forma significativa la incorporación de 3H E2 al útero; efecto que parece ser órgano-específico ya que no alteró la incorporación de 3H E2 a la hipófisis, hígado, diafragma ni cerebro.

Los resultados demuestran que la hTeBG inyectada en ratas mantiene su actividad ligante por un tiempo prolongado en circulación. Los cambios en la distribución sanguínea y tisular de E2 sugieren que la rata es un modelo adecuado para estudiar las funciones de la TeBG.

REGIONES ORGANIZADORAS DEL NUCLEOLO EN POBLACIONES DEL GENERO *Tropidurus* (IGUANIDAE). (Nucleolus organizer regions of populations in the genus *Tropidurus* (Iguanidae)).

Northland, I., Capetillo, J., Cruz, N., Maya, H. y Zepeda, M.

Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

Donoso Barros en 1966 reconoce el Norte de Chile la existencia de tres especies del género *Tropidurus*: *T. theresioides*, *T. tarapacensis* y *T. peruvianus*, ésta última con 7 subespecies: *atacaensis*, *atacamensis*, *marianus*, *quadrivittatus*, *tigris*, *heterolepis* y *mamiensis*. Basándose en caracteres de escutelación y mediciones Ortiz en 1980 plantea la existencia de 6 especies, señalando que las 3 primeras subespecies corresponden a *T. atacamensis* y que *T. mamiensis* es sinónimo de *T. theresioides*.

Estudios cromosómicos, en ejemplares provenientes de poblaciones de la Costa: Cobija e Iquique y del Interior: La Tirana, Huayca, Pica y Mamiña, revelaron un cariotipo de  $2n = 38$  (14 M y 24 m) siendo similar en todos los ejemplares a excepción de los de Mamiña que muestran diferencia en los pares 5 y 6. (Northland y col. 1986).

Como aporte al problema sistemático se realizó bandedo Ag As NOR en placas metafásicas de ejemplares provenientes de Iquique, Mamiña y La Huayca. Se observó bandas positivas en los telómeros de 2 macrocromosomas (1 y 3) y en un par de microcromosomas en todos los ejemplares analizados. Estos resultados son similares a los obtenidos previamente para los ejemplares provenientes de Antofagasta. Las poblaciones estudiadas de *Tropidurus* del norte grande difieren en el número diploide así como en el número y localización de los NORs de *T. torquatus* de Brasil ( $2n = 36$ ).

Se discute el aporte del bandedo Ag As NOR en el estudio sistemático evolutivo de las especies de este género.

Financiamiento: Proyecto S-08 DIEXAT. U. Antofagasta.

EFFECTO DE LA FASE LUNAR E ILUMINACION EN LA ACTIVIDAD CIRCADIANA DE DOS ESPECIES DE CRICETIDOS ANDINOS. (Moon phase and light effects on the circadian activity of two species of Andean Cricetids). Novoa, F., Rosengann, M. y Barahona, P. Depto. Cs. Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los ritmos circadianos son expresiones conductuales fundamentalmente endógenas, pero susceptibles de ser moduladas por factores ambientales. El objetivo de este trabajo es definir el patrón básico de actividad de *Akodon andinus* y *Phyllotis xanthopygus* y determinar los efectos moduladores tanto de la iluminación natural en terreno (fase lunar) como de la iluminación artificial en el laboratorio.

Las observaciones en terreno (Farellones) se realizaron en verano utilizando aproximadamente igual número de trampas durante dos noches y un día en periodos opuestos del ciclo lunar (creciente a llena y menguante a nueva). Las observaciones en laboratorio se realizaron en tres individuos de cada especie, determinándose los patrones de actividad locomotora bajo tres situaciones experimentales de luz y oscuridad: (L:D 12:12), (L:D 0:24) y (L:D 24:0).

El éxito de captura nocturna de *A. andinus* no evidencia relación con la fase lunar, ya que en ambos periodos los valores se mantuvieron constantes (22,5 y 20,4 % respectivamente), y las capturas diurnas mostraron magnitudes similares (21,4 ± 6,6 %,  $\bar{X} \pm SD$ ). Por el contrario, *P. xanthopygus* presentó bajos valores de captura durante el día (< 2 %) y una notable disminución en los valores de captura nocturna en el periodo de mayor iluminación lunar (2,25 %) en relación a los obtenidos en el periodo de menor luminosidad (12,1 %).

Los ritmos de actividad locomotora en L:D 12:12 indican que ambas especies presentan una mayor actividad nocturna. Esta disminuye a 9,8% en *P. xanthopygus* en L:D 24:0 en relación a la actividad en L:D 0:24. Por el contrario, *A. andinus* presenta en las mismas condiciones un aumento de su actividad nocturna y en L:D 12:12 una actividad diurna 7 veces superior a la de *P. xanthopygus*.

La indiferencia de *A. andinus* a los cambios experimentales en los ciclos de luminosidad explican la similitud de los patrones de captura de este roedor tanto en el día y la noche, como en ambos periodos del ciclo lunar. Paralelamente, la inhibición ocasionada por la luz en la actividad de *P. xanthopygus*, explica la disminución de los valores de éxito de captura en los periodos de mayor luminosidad lunar.

Financiado parcialmente por proyecto DIB N 2594/8714.

REORIENTACION DEL EJE ANIMAL/VEGETAL EN HUEVOS DE LA SAN GUIJUELA *Theromyzon tude* (Reorientation of the animal/vegetal axis in eggs of the leech *T. tude*). Olea, N., Matte, C. y Fernández, J. Dept. Biol. Fac. Ciencias, Universidad de Chile.

Hay buena evidencia que la organización del huevo no es homogénea a lo largo del eje animal/vegetal (AV). Además es conocido, que durante el clivaje diferentes regiones del huevo se transfieren ordenadamente a los blastómeros que fundan las distintas líneas celulares del embrión. Sin embargo, poco se sabe sobre como surge polaridad a lo largo del referido eje y como esta propiedad se traduce en diversidad celular durante la ontogenia. En esta presentación se describen los desplazamientos del polo animal (PA) en el huevo de sanguijuela y se discuten los posibles mecanismos involucrados en la determinación y reorientación del eje AV. El PA se hace visible a los 60 min de desarrollo, cuando un polo del huso meiótico I se acopla a un sector diferenciado del ectoplasma. Como la localización del PA - relativa a la posición de reposo del huevo - es muy variable, el ángulo comprendido entre el eje AV y el eje o vector gravitacional oscila entre 0 y 90°. La reorientación del eje AV parece iniciarse una vez concluida la segunda división meiótica (3 h de desarrollo) y culmina durante el establecimiento de dominios polares de ooplasma (4-5 h de desarrollo). Durante este periodo los dos ejes se aproximan hasta hacerse paralelos, en un proceso que es bloqueado por citochalasina B. Se concluye que: (a) la determinación del PA ocurriría durante la ovogénesis y su posición en el hemisferio animal parecería ser independiente de como se distribuyen los componentes más pesados del oocito y (b) la reorientación del eje AV es probablemente dirigida por la fuerza de gravedad. Se propone un modelo de organización del huevo indiviso que da cuenta de la reorientación del eje AV como resultado de la rotación del ectoplasma relativo al endoplasma, o vice-versa, en un proceso dependiente de la actividad del citoesqueleto de actina. Proyecto B 1987/8745. Universidad de Chile).

DISEÑO CITOFUORIMETRO DE FLUJO CON UN LASER DE 3 m Watt DE POTENCIA. (Design of a flow cytophometer with a 3 W LASER). Ojeda, F., Guarda, M.I., Maldonado, C. Instituto de Física, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

La técnica de citofluorimetría de flujo tiene aplicaciones en muy variados campos (Loken M.R., Stall A.M., 1983, J. Immunol. Meth. 50:R85, 1982). Una de las limitantes es su alto costo. Un estudio de sus constituyentes revela que la alta potencia usada (1000-2000 mW) es uno de los factores de encarecimiento. En el presente trabajo se describe un equipo diseñado con un laser de Argón ( $\lambda = 488 \text{ nm}$ ) que es operado entre 1,7 y 3 mW de potencia.

El sistema diseñado ha sido chequeado con microesferas fluorescentes estándar. El coeficiente de variación a éstas fue chequeado en un citofluorímetro Epics V en el laboratorio de Inmunología del Mount Sinai Hospital, Toronto, Canadá por el Dr. John Roder y mostraron un coeficiente de variación de CV = 5,5 %. En este aspecto nuestro instrumento es comparable al Epics V.

El sistema construido se aplica al estudio del efecto de la irradiación sobre la capacidad de linfocitos tímicos de ratón de hidrolizar fluoresceína diacetato y retener la fluoresceína resultante. Dado que la membrana plasmática intacta es impermeable a la fluoresceína, este test es reconocido como una medida de la integridad de la membrana plasmática (Rotman B., Paper Mater BW. Procc. Natl. Sci. 55:134, 1966).

Los resultados muestran que  $D_{37} = cGy$  y que a 5 cGy ya se observa un efecto reproducible. Este test de integridad de membrana resulta mucho más sensible que el test de exclusión de tripan azul.

Financiado por: Proyecto de Investigación S-85-14, Universidad Austral de Chile.

EFFECTO DE TOXINAS EN EL PROCESO DE ACTIVACION DE CORRIENTES DE Na EN FIBRA MUSCULAR ESQUELETICA DE RANA. (Effect of toxins on sodium current activation in frog skeletal muscle fibres). Olivares, E., Jaimovich, E. Depto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se estudió el canal de Na dependiente de voltaje mediante un sistema de control de potencial en fibra cortada.

Se aislaron fibras únicas de músculo semitendinoso de *Caudiverbera caudiverbera*, en una solución de disolución de alto  $Mg^{+2}$  y bajo  $Ca^{+2}$ . La fibra se montó en una cámara de 4 compartimientos, quedando sus extremos en una solución relajante.

Batractoxina (BTX) 0,1  $\mu M$  disuelta en una solución test, a un potencial de mantención de -90 mV, produjo un desplazamiento de la curva I-V de  $12 \pm 3 \text{ mV}$  hacia potenciales más negativos, y una disminución del máximo de la corriente de Na (INa) de alrededor de 30% con respecto al control. También se observó un desplazamiento del potencial de inversión para INa hacia potenciales más negativos. No se observó una modificación de la cinética de inactivación de la corriente en estas condiciones.

Se analiza una posible interacción de BTX con la toxina gamma de escorpión *Tityus serrulatus* (Tityx), que produce una reducción irreversible de INa a concentraciones de 1 a 5 nM.

Se discute el efecto de estas toxinas sobre el mecanismo de activación por potencial del canal.

Financiado por: NIH GM35981, MDA, FONDECYT 134, 1340, DIB 2123.

EFFECTO DEL ARSENIATO EN CEPAS NATIVAS DE *T.ferrooxidans* DEL NORTE DE CHILE. (Effect of arsenate on *T.ferrooxidans* native strains from Northern Chile). Olivares, H., Campos, G. y Vera, M.L. Unidad de Bioquímica. Facultad de Cs. de la Salud. Depto. de Cs. Biológicas. Universidad de Antofagasta. (Patrocinio: M.L. Vera).

El arsénico, elemento tóxico para diversos organismos, es uno de los principales contaminantes de los suelos y aguas del Norte de Chile. En la optimización del proceso de biolixiviación de minerales de cobre de baja ley, se requiere el uso de cepas de *T.ferrooxidans* resistentes al arsénico.

En estudios preliminares de la cepa MB, aislada en nuestro laboratorio, encontramos que la toxicidad del arsénico fue dependiente de su estado de oxidación. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto tóxico del arsénico en esta bacteria acidófila.

La cepa MB fue crecida en medio líquido 9K modificado a pH 1,6 a 30°C y en medio sólido a pH 3,0, los que fueron suplementados con distintas concentraciones de arsénico proveniente de la sal  $\text{Na}_2\text{HASO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ . El crecimiento celular se siguió por recuento en cámara de Neubauer y por el aumento de la DO a 550 nm. A bajas concentraciones de arseniato (50 a 100 ppm) se encontró un efecto activador y de (200 a 3200 ppm) un efecto tóxico. Resultados similares se obtuvieron en medio sólido. Se compararon los perfiles electroforéticos en geles de poliacrilamida-SDS de cepas silvestres y mutantes.

Se puede concluir que el efecto tóxico de arseniato es dependiente de su concentración y la resistencia de cepas mutantes está mediada por un mecanismo adaptativo, el que podría estar codificado por DNA extracromosomal.

Financiado por DEXAT. Proyecto S03-85

EL FENOTIPO BEBEDOR DE ETANOL (EtOH) EN GENERACIONES DE RATAS A.G./12, ESTUDIADO POR SELECCION LIBRE DE ETANOL (S.L.E.). (The ethanol drinker phenotype in "A.G./12" generations rats studied by the free ethanol selection (F.E.S.). Olguin, J., Quiroz, E., Rentería, S. & Muñoz, L. Universidad de Chile - Facultad de Medicina Instituto de Medicina Experimental; Laboratorio de Neuroquímica - Santiago 7 - Chile. (Patrocinio: E. Egraña) En nuestro Instituto se ha demostrado genética del apetito por EtOH en subcepa A.G./12 creada en 1948 (Egña et al.). Nos interesó conocer: 1) Clasificación en "D" (g EtOH/100 g rata/24 h) en 5ª, 6ª & 7ª generaciones en S.L.E. 2) Diferencia entre ♂ y ♀ en las mismas generaciones. 3) Relación entre apetito por EtOH y preñez de 5ª y 6ª gen. A.G./12 en S.L.E. Rata adulta Wistar ♂ y ♀ A.G./12, sometidas a S.L.E. Se les ofreció en jaula individual, soluciones de EtOH v/v 3, 12, 18, 25% y H<sub>2</sub>O, controlándose ingesta diaria. Registro semanal de peso. Resultados: 1) Clasificación en D: se observó una homogeneidad de D en 5ª gen., alcanzándose un 100% de D1 (grandes bebedoras), a diferencia de 6ª donde el mayor % fue D3 y para 7ª D1. 2) Diferencia sexual en consumo de EtOH: en 5ª gen. no se constató diferencia entre ambos sexos, en cambio en 6ª gen. se observó un franco predominio de ♀ (D1-D3) lo que no ocurrió en los ♂ donde el mayor % se ubicó en grupos D4-D5. En 7ª gen. se obtuvo prácticamente un 100% D1 en ♀, comparado con el grupo ♂ en que se observó una dispersión de diferente D pero con predominio D1 (40%). 3) En cuanto a preñez y consumo de EtOH se observó que se agrupan en igual proporción en las diferentes categorías las que aumentaron, mantuvieron o disminuyeron el grado de bebedor en relación con el pre-embarazo. Conclusiones: en relación a la distribución por sexo de D, se comprobó un franco predominio de mayor bebedor en ♀ vs ♂. No se pudo establecer una relación estricta entre embarazo y cuantía de ingesta de EtOH, pero sí llama la atención que un 70% de las ratas, mantuvo o disminuyó su apetito alcohólico durante la preñez.

( ) Alumnos Ayudantes Investigadores; U. de Chile.

ACTIVIDAD PROLIFERATIVA Y DISTRIBUCION INTRANUCLEAR DEL ANTIGENO T MAYOR EN CELULAS TRANSFORMADAS POR SV40. (Proliferative activity and intranuclear distribution of large T antigen in SV40-transformed cells). Ordenes, G.E., Santos, M. Depto. Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

El antígeno T mayor (agT), proteína viral responsable de la transformación celular, se concentra en el núcleo de las células transformadas por SV40. Como una forma de investigar el rol del agT en el control de la proliferación de estas células, se estableció una correlación entre el patrón de distribución intranuclear del agT y la actividad proliferativa. El agT fue detectado por inmunoperoxidasa en cultivos con alta (A) y baja (B) actividad proliferativa, en células tratadas con hidroxiaurea (Hu) y en células transformadas por mutantes termosensibles de SV40 (ts), que expresan el fenotipo transformado a 33,0°C y normal a 39,5°C, sin dejar de proliferar. Los resultados mostraron que una alta actividad proliferativa (cultivos tipo A) se correlaciona con un patrón heterogéneo del agT nuclear mientras que éste es homogéneo en cultivos tipo B. Las células tratadas con Hu presentan una distribución homogénea, que se hace heterogénea cuando se elimina el inhibidor de la síntesis de DNA. En las células transformadas por mutantes ts el patrón es independiente del fenotipo pero depende de la actividad proliferativa. En conclusión, el patrón de distribución del agT nuclear varía en relación con el estado proliferativo. Estas variaciones sugieren una interacción dinámica del agT con los distintos componentes subnucleares a través de los cuales puede ejercer acciones sobre los mecanismos que controlan la proliferación de las células transformadas por SV40.

Proyectos: Fondecyt Nos. 1137 y 447; D.I.B., Universidad de Chile B 2366-8613 (8723).

'PRODUCCION DE ENZIMAS Y ALCOHOLES POR CRYSONILIA SITOPHILA UTILIZANDO DISACARIDOS COMO FUENTE DE CARBONO. (Disaccharides as carbon source in the production of enzymes and alcohols by *Crysonilia sitophila*). O'Reilly, S., Romero, J.C., Campos, V., Salas, E., Erazo, S., Instituto Químico e Instituto de Biología; Universidad Católica de Valparaíso. Durán, N. Departamento de Química Orgánica, Universidad Estatal de Campinas, Brasil (Patrocinio: G. González).

Dado el crecimiento de la población y las reservas de combustibles existentes se piensa que a fines de este siglo será imposible proveer toda la energía demandada por la economía mundial. Biomasa en forma de celulosa, hemicelulosa y lignina representa una fuente renovable de materia (azúcares fermentables a alcoholes, adhesivos solventes) y energía. Microorganismos capaces de utilizar celulosa se encuentran entre bacterias, actinomicetes y hongos.

En este trabajo se utiliza *Crysonilia sitophila*, aislada de macerados del insecto *Tribolium ferrugineum* encontrado en muestras de cáscara de arroz procedentes de Brasil. Se estudia la producción de enzimas (celulolíticas y proteolíticas) y de alcoholes utilizando disacáridos como fuente de carbono.

De acuerdo a los resultados obtenidos hay producción de enzimas celulolíticas extracelulares cuando se emplea como nutriente celobiosa (4-β-D-glucopiranosil-D-glucopiranososa); no evidenciándose actividad con sacarosa (α-D-glucopiranosil-β-D-fructofuranósido) o con lactosa (4-β-D-galactopiranosil-D-glucopiranososa).

Los resultados obtenidos sugieren que disacáridos con enlaces tipo β-glucosídicos inducen la formación de enzimas que tienen la capacidad de hidrolizar β-glucósidos (4-nitrofenil-β-D-glucopiranosido) y celulosa (papel filtro). En todos los casos hay actividad proteolítica (azocoll) y en relación a la formación de alcoholes sólo se evidencia la presencia de etanol.

**MODULACION DEL METABOLISMO DEL ACIDO ARAQUIDONICO POR ALTERACIONES EN LA COMPOSICION DE LAS ISOENZIMAS CITOCROMO P-450.** (Modulation of arachidonic acid metabolism by alteration in the composition of cytochrome P-450 isozymes. Orellana, M., Capdevila, J. y Gil, L. Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Department of Medicine, University of Vanderbilt, Nashville, Tennessee, USA.

El ácido araquidónico (AA), es el precursor de una serie de moléculas con actividad biológica tales como: prostaglandinas, tromboxanos y prostacilinas de importancia para el funcionamiento celular. En los últimos años se ha descrito la participación del citocromo P-450 microsomal en el metabolismo del AA. Esta reacción oxidativa genera una variedad de compuestos tales como los ácidos hidroxicicosatetraenoicos (HETES), los ácidos epoxicoicosa-trienoicos (EETS) y los ácidos monohidroxiados en posiciones  $w$  y  $w-1$ .

En el presente trabajo hemos estudiado la influencia del estado nutricional en el metabolismo de AA. Microsomas de hígado de rata en diferente estado nutricional fueron incubados con AA C14 y los numerosos productos de oxidación fueron separados e identificados por HPLC. La desnutrición proteico-energética (DPE) no alteró el metabolismo total del AA. Sin embargo, se observaron diferencias significativas en la producción de los diversos metabolitos. La producción de EETS y HETES fue mucho menor en el grupo con DPE que en ratas normales. En cambio el contenido de los ácidos monohidroxiados en posiciones  $w$  y  $w-1$  estaba significativamente aumentado en el grupo desnutrido. Estas diferencias en la producción de metabolitos fueron revertidas al realimentar las ratas con una dieta proteica sugiriendo que estos resultados se podrían explicar por alteraciones en la composición de las diferentes isoenzimas P-450.

Estas alteraciones metabólicas pueden tener enorme importancia por cuanto algunos de los metabolitos del AA actúan como señales para gatillar importantes procesos fisiológicos.

Financiado por proyecto: 0573 FONDECYT; B-1970-8745 DIB

**ESTUDIO SOBRE LAS MICROESTRUCTURAS DE ESCAMAS EN LAGARTOS IGUANIDOS DE CHILE** (On the microstructure of scales of iguanid lizards from Chile). Ortiz, J.C. y Pellet, P. Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

Las microestructuras de la superficie de escamas de reptiles es variable. Trabajos recientes en lagartos sugieren que estas variaciones involucran innovaciones en la derivación de nuevas morfologías y que estos caracteres tendrían importancia de diagnóstico a lo menos a nivel genérico y en algunos casos a nivel específico.

En este trabajo se analizan muestras de escamas dorsales de la línea medio lateral de Pristidactylus torquatus, Centrura flagellifera, Tropidurus atacamensis, T. theresioides, T. quadrivittatus, T. yanesi, Liolaemus chilensis, L. cyanogaster, L. copiapensis, L. chilensis, L. fuscus, L. lemniscatus, L. pictus y L. tenuis.

Las escamas se limpiaron en una cámara de ultrasonido Branson 220, luego fueron colocadas en un secador de punto crítico Balzers Union y metalizadas con una aleación de oro-platino. Las muestras fueron observadas con un microscopio de barrido (ETEC autoscán).

Los resultados muestran que es posible reconocer caracteres que permiten hacer diferencias a nivel genérico. Al interior del género Tropidurus se observa una gran homogeneidad en la estructura de las microornamentaciones en las diferentes especies. En cambio en Liolaemus se pudo constatar que existe una variabilidad, pero que se hace mínima en las especies más relacionadas filogenéticamente.

Proy. Inv. 20.38.02 Dirección de Investigación, Univ. de Concepción.

**EFFECTO DE ANDROGENOS SOBRE LA CONFORMACION DE LA MEMBRANA NUCLEAR EN CELULAS EPITELIALES DE VESICULAS SEMINALES EN LA RATA.** (Effect of androgen on the nuclear membrane morphology in epithelial cells of rat seminal vesicles). Ortiz, H.E., Cavicchia, J.C. Instituto de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Médicas. U.N.C., Mendoza. Argentina.

Se conoce que los núcleos y sus poros son estructuras dinámicas, el tamaño nuclear y la densidad de sus poros pueden variar por cambios en los requerimientos de intercambio núcleo-citoplasma. Con el objeto de determinar si estas estructuras se modifican por acción hormonal, ratas machos adultos fueron castradas y tratadas con testosterona de reemplazo (1 mg/Kg/día). Las vesículas seminales de animales controles, castrados y estimulados con testosterona fueron procesadas para microscopía óptica, electrónica de transmisión y criofractura. Las imágenes fueron analizadas con videomicroscopía, calcados los perímetros nucleares y procesadas en tabla digitalizada (Bitpad) y computadora Hewlett Packard para obtener perímetros y áreas nucleares. Hay diferencias significativas ( $p < 0.001$ ) entre grupos control (279  $\mu\text{m}^2 \pm 8$ ), castrados (186  $\mu\text{m}^2 \pm 8$ ) y estimulados (325  $\mu\text{m}^2 \pm 11$ ). También se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en imágenes obtenidas por criofractura en la densidad de poros nucleares entre el grupo control (4,68 poros/ $\mu\text{m}^2 \pm 0,13$ ) y castrados (5,31 poros/ $\mu\text{m}^2 \pm 0,33$ ). La mayor densidad de poros en las membranas nucleares puede ser relativa y estar relacionadas con la reducción de la superficie nuclear en los animales castrados.

**CELULAS CEBADAS EN EL UTERO DE RATON.** (Mast cells in mouse uterus). Padilla, L.; Montesino, H.; Asencio, H.; Villena, F.; Cruz, M.A.; Rudolph, M.T. Depto. de Cs. Fisiológicas, Fac. de Cs. Biol. y de Rec. Nat. Universidad de Concepción.

Se ha demostrado la participación de algunos mediadores de las células cebadas sobre el útero, encontrándose que tanto histamina como serotonina, son capaces de estimular la actividad contráctil. En este trabajo, diseñado para analizar las características de las células cebadas y su posible regulación por hormonas sexuales, se presentan los resultados obtenidos en útero de ratones.

Se consideraron las siguientes condiciones experimentales: a) ratones en Estro y Diestro; b) ratones normales tratados con Estrógenos o Progesterona; c) ratones ovariectomizadas y ovariectomizadas tratadas con Estrógenos o Progesterona y d) ratones en distintos períodos de gestación y después del parto.

El análisis histológico de las células cebadas junto con la determinación fluorimétrica de histamina demostró que existe una relación directa entre la población relativa de células cebadas y la concentración de histamina ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  prot.) presente en las zonas analizadas. El predominio de Progesterona produce un aumento en la concentración de histamina (Diestro:  $0.06 \pm 0.02$  (cuernos) y  $0.08 \pm 0.02$  (cervix)  $\bar{x} \pm \text{D.E.}$ ,  $n=6$ ), respectó al predominio de Estrógenos (Estro:  $0.02 \pm 0.004$  (cuernos) y  $0.02 \pm 0.003$  (cervix),  $\bar{x} \pm \text{D.E.}$ ,  $n=6$ ). Durante la gestación se produce un aumento paulatino de células cebadas y de histamina a medida que se acerca el parto ( $0.09 \pm 0.008$  (cuernos) y  $0.20 \pm 0.03$  (cervix)  $n=5$ ), para luego disminuir a niveles similares a diestro ( $0.05 \pm 0.01$ ,  $n=3$  en cuernos y cervix, 5 horas después del parto).

Se presentan algunas hipótesis sobre la posible función de las células cebadas en la fisiología del útero, relacionando estos resultados con su ubicación en el tejido uterino y el efecto de sus mediadores en la contractilidad.

Proy. 20.33.28. Dirección de Investigación. Universidad de Concepción

FUERZA MUSCULAR RESPIRATORIA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS. (Respiratory muscle force in patients with diabetes mellitus). Palacios, S., Amthauer, N., Chiang, M.T., Gutierrez, M., Morales, Y., Astete, G., Norris, B. Departamento de Cs. Fisiol., Facultad de Cs. Biol. y de R.N., Universidad de Concepción.

La diabetes mellitus (DM), enfermedad de gran incidencia en la población, presenta neuropatía periférica entre sus complicaciones. Los resultados de estudios de función respiratoria en DM han sido contradictorios. El objetivo de este estudio fue evaluar algunos parámetros ventilatorios y fuerza muscular respiratoria en pacientes con DM no insulino dependiente ( $G_{II}$ ) y con DM insulino dependiente ( $G_I$ ).

Se estudiaron 10 pacientes  $G_I$ , 9 pacientes  $G_{II}$  y un grupo control (GC) sano de 47 personas. Se evaluó: 1° estado nutricional; 2° volúmenes y capacidades pulmonares con espirómetro Collins de 10 L; se calculó ventilación máxima voluntaria (VMV); 3° fuerza muscular respiratoria, presiones inspiratorias y espiratorias máximas (PIM y PEM a capacidad pulmonar total y a volumen residual respectivamente); 4° se evaluó función neuromuscular periférica mediante técnicas clásicas a nivel de ciático-poplíteo externo y músculo tibialis anterior.

En ambos grupos de DM se encontraron alteraciones a nivel de nervio y músculo, de mayor intensidad en  $G_I$ . Los parámetros ventilatorios del  $G_I$  fueron para CVF, VEF<sub>1</sub> y VMV menores ( $P < 0.01$ ) que los del grupo control. En  $G_{II}$  no hubo diferencia significativa con respecto al GC. En ambos grupos no hubo diferencia significativa en valores del PIM y PEM con respecto al GC.

Los resultados demuestran que en  $G_I$  algunos parámetros ventilatorios están alterados, no así en  $G_{II}$ . A pesar de las alteraciones de neuropatía periférica en ambos grupos, la fuerza muscular respiratoria no se encuentra comprometida.

\*

Proyectos 20.33.10 y 20.33.33, U. de Concepción.

CITOGENETICA DE UN TETRAPLOIDE NATURAL: *Phycella scarlatina* Rav. (Amaryllidaceae). (Cytogenetics of a natural tetraploid: *Phycella scarlatina* Rav. (Amaryllidaceae)). PALMA-ROJAS, C. Depto. Biología Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena.

La descripción y comparación cuantitativa de los cariotipos de *Phycella scarlatina*,  $2n=32$ , *Phycella ignea*,  $2n=16$  y *Phycella* sp.  $2n=16$  han llevado a postular que *P. scarlatina* sería un alotetraploide originado de las actuales formas de *P. ignea* y *P. sp.*, o de sus ancestros.

Con el objeto de contrastar parcialmente esta hipótesis, se determinó cuantitativamente la cantidad de DNA nuclear 2C en cada una de las especies y la localización cromosómica de las zonas de heterocromatina C y NOR. Paralelamente y con el objeto de evaluar parcialmente la interfertilidad de estas especies, se realizó un cruzamiento entre *P. scarlatina* y *P. ignea*.

Los valores de DNA encontrados apoyan la condición tetraploide de *P. scarlatina*, sin embargo, la comparación de los cariotipos y la localización de bandas C y NOR revelaron que, aparentemente, los únicos cromosomas propios de los supuestos parentales conservados en el tetraploide serían los portadores de zonas NOR.

Estos resultados y la viabilidad de las semillas obtenidas del cruzamiento que permitieron describir el cariotipo del híbrido, sugerirían que el tetraploide ha divergido drásticamente de sus ancestros diploides, y que las actuales especies constituirían un complejo poliploide maduro o declinante.

Financiado parcialmente por proyecto 12.2.09, D.I.U.L.S.

PROYECCIONES Y CONVERGENCIA DE IMPULSOS VISUALES Y DEL COMPLEJO PULVINO-LATERAL POSTERIOR (P-LP) EN LA CORTEZA DEL CINGULO DEL GATO. (Visual and pulvinar-lateral posterior projection and convergence on the cingulate cortex of the cat). Palestini, M., De Marinis, A. y Frenkel, C. Departamento de Preclínicas, Facultad de Medicina Oriente, Universidad de Chile.

La corteza cingulada cumple un papel básico en la conducta de orientación y búsqueda motivada por estímulo visual. Igual propiedad atribuimos al complejo P-LP. Por esta razón estudiamos en el cingulo, las proyecciones de los impulsos retinianos y del P-LP.

Se estimuló eléctricamente el P-LP en gatos encéfalo aislado mantenidos con respiración artificial; anestesia local en las heridas operatorias y sostenidos por un arnés evitando dolor por presión. Los estímulos eléctricos fueron pulsos únicos de 300 a 1000  $\mu$ A; duración 0.05 mseg a intervalos de 0.5 seg y trenes de pulsos de 10 a 20 mseg de duración, de iguales características. Se estimuló con destellos que precedieron en 10 a 20 mseg el estímulo del P-LP. Las unidades del cingulo fueron registradas con micropipetas con 4MNaCl y azul de pontamina. Se controló histológicamente los puntos de registro y estimulación.

De 82 unidades, 11 (13,4%) respondieron sólo al destello con latencias de 40-50 mseg y 15 (18,3%) lo hicieron al estímulo eléctrico de P-LP. Las latencias de estas últimas respuestas fueron de 10-30 mseg seguidas de inhibición y rebote a 200-250 mseg. Frecuentemente sólo se observó inhibición y rebote. Un número de 25 unidades (30,5%) respondió a ambos estímulos, 16 con potenciación y 5 con depresión. De 31 unidades (37,8%) no respondieron a los estímulos individuales, 11 respondieron a la estimulación pareada. Hubo 2 unidades antidrómicas.

Los resultados muestran en la corteza del cingulo, proyecciones, convergencias y modulaciones de impulsos visuales y del P-LP.

Proyecto B. 2152 DIB, Universidad de Chile.

ESTUDIO COMPARATIVO DE FACTORES NATRIURETICOS PARCIALMENTE PURIFICADOS A PARTIR DE AURICULA DE BOVINO Y DE AJO. (Comparative studies of natriuretic factors from bovine and garlic). C. Pantoja, V., L. Chiang, Ch., Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

A partir de 1981 ha ocurrido un notable desarrollo en el conocimiento de la regulación de la homeostasis de sal y agua, con el descubrimiento de los factores natriuréticos atriales. Actualmente se acepta que este factor hormonal participa no sólo en la excreción de sal y de agua, sino también en el control de la presión sanguínea.

En este trabajo se desarrolló una metodología de purificación de fracciones atriales de bovino y de ajo, la que consistió básicamente en la diálisis del homogenizado y separación mediante cromatografía en columnas de Sephadex G-25 y G-10 equilibradas con tampón acetato 0.01 M pH 4.7, en la separación de la fracción atrial y columnas de Fractogel DEAE 650(M) en buffer acetato 0.01 M pH 4.7 y columna de Fractogel Butyl 650(M) en tampón fosfato 0.01 M pH 7, con gradiente de sulfato de amonio 1.8 a 0 M., en la separación de la fracción activa de ajo.

La inyección de las fracciones atriales y de ajo, en dosis única, en perros anestesiados, indujeron una respuesta diurética y natriurética, dosis dependiente, las que no se acompañaron de cambios en la presión arterial ni en el electrocardiograma.

Ambas fracciones además, inhibieron la contracción inducida por Norepinefrina en musculatura lisa vascular (arteria carótida de perro) aislada y el transporte de sodio en piel abdominal de *Pleurodema thaul*.

Se discute la naturaleza química y posibles mecanismos de acción de ambos factores natriuréticos.

**INFLUENCIAS PURINERGICAS EN RESPUESTAS NORADRENERGICAS.** (Purinergetic influences on noradrenergic responses). Parada, S. y Vesperinas, G. Laboratorio de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: J. Pablo Huidobro-Toro).

Estudios previos del Laboratorio han postulado que adenosina 5'trifosfato (ATP) y noradrenalina (NA) participan en el tono motor en el segmento prostático del conducto deferente. Para conocer más detalles sobre una posible interacción se aisló el segmento prostático del conducto de ratas Sprague Dawley (250-300 g) las que se superfundieron en una cámara a 37°C con solución Krebs-Ringer bajo 0.7 g de tensión basal. Se registró actividad muscular isométrica. Se observó que ATP produce una rápida contracción muscular la que es marcadamente potenciada si se co-administra junto con una dosis pequeña de NA. El sinergismo es concentración dependiente. Interviene un receptor purinérgico de tipo P2 ya que el efecto de ATP no es imitado por AMP, adenosina o GTP. Análogos no hidrolizables del ATP como B, $\gamma$ -mATP o el  $\alpha$ , B-imido ATP también producen sinergismo. La potenciación se observa tanto en tejidos controles como en conductos simpatectomizados lo que sugiere que la interacción ocurre postsinápticamente. El sinergismo se bloquea por antagonismo alfa $\beta$ -adrenérgico o por desensibilización del receptor P2 utilizando 45  $\mu$ M  $\alpha$ , B-mATP. Por otra parte, AMP o adenosina (3-100  $\mu$ M) bloquean el segundo componente de la respuesta contráctil de NA, que es aparentemente dependiente del influjo de calcio extracelular mediado por canales de calcio. La acción de adenosina o AMP es imitada por nifedipina, verapamil, metoxiverapamil, lantano y manganeso. Estos resultados plantean como hipótesis de trabajo que la contracción muscular inducida por NA se modifica postsinápticamente a dos niveles: 1) por el receptor P2 produciendo un sinergismo postsináptico y 2) aparentemente por un receptor P1 que alteraría el estado de los canales de calcio.

Apoyo de proyecto DIUC 74/86.

**EN LA BUSQUEDA DE UN MARCADOR ENZIMATICO DE LA TOLERANCIA AL FRIO EN VEGETALES SUPERIORES** (Searching a cold-tolerance enzymatic marker in higher plants) Parra, C., Pérez, H., Sáez, J., Moneva, Ch. y Meza-Basso L. Instituto de Bioquímica, Fac. Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Los vegetales resistentes al frío utilizan estrategias adaptativas como respuesta a las fluctuaciones ambientales de temperatura. Hemos encontrado en raps que luego de un tratamiento a 0°C, se produce la inducción de la síntesis de ciertas proteínas específicas. Se intenta la identificación de los productos inducibles y su asociación al desarrollo de la resistencia al frío. La elección corresponde a la enzima, Fenilalanina Amino Liasa (PAL), cuyos niveles aumentan ante diversas condiciones de estres ambiental.

Luego de injuria mecánica, esta enzima es inducida en tubérculos de papa (*Solanum tuberosum*). Aprovechando esta propiedad, se procedió al aislamiento de la PAL a partir de este tejido. La purificación se realizó empleando diversos tipos de cromatografía y electroforesis preparativa. Se utilizó una preparación homogénea para crecer en conejo anticuerpos inmunoespecíficos. Luego de un tratamiento a 0°C, se examinó los niveles de la enzima en extractos de cotiledones de plántulas de raps. Las proteínas fueron separadas por electroforesis y transferidos a papel de nitrocelulosa. La detección se realizó utilizando el sistema streptavidina-biotina conjugada a peróxidasa.

Se observa un aumento de la actividad luego de un tratamiento a temperatura baja. Se intenta determinar si el cambio encontrado, es el resultado de la activación de la enzima preexistente, o bien es el producto de cambio en la abundancia de su correspondiente mRNA.

Financiado por: DID-UACH RS-84-29 y Fondecyt 1135/86.

**PROSTAGLANDINA-E<sub>2</sub>, RENAL Y EXCRECION DE ELECTROLITOS DURANTE EL CICLO ESTRAL.** (Renal prostaglandin-E<sub>2</sub> and urinary excretion of electrolytes during the estrus cycle). Pardo, J. y Zamorano, B. Depto. Cs. Ecológicas, Fac. Ciencias, Universidad de Chile.

Recientemente demostramos cambios de la reactividad vascular (RV), durante el ciclo estral (CE) de la rata, asociados a modificaciones del nivel vascular de prostaglandina-E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>). Dado que, PGE<sub>2</sub>, diurética y natriurética, podría influir sobre la RV modificando el balance de Na<sup>+</sup>, estudiamos si cambios renales de PGE<sub>2</sub> se relacionaban con variaciones de la excreción de agua y electrolitos durante el CE.

Se usaron 32 ratas Sprague-Dawley normales. El CE se determinó por análisis citológico vaginal. La excreción de agua y electrolitos se midió en jaulas metabólicas individuales. La concentración de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> se determinó en un fotómetro-Eppendorf y la de Cl<sup>-</sup> en un cloridrómetro-digital-Büchler. La determinación de PGE<sub>2</sub> se realizó por radioinmunoanálisis, previa extracción y separación cromatográfica.

Los resultados demuestran una marcada disminución de la excreción de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> durante el período de metaestro del CE (p < 0.005), asociada a una disminución de la concentración de PGE<sub>2</sub> en médula renal y en orina. La mayor excreción de PGE<sub>2</sub> y electrolitos se observó en el período diestro-proestro del CE (p < 0.001).

Los resultados obtenidos en este trabajo, sugieren una relación entre excreción de electrolitos y generación de PGs renales durante el CE.

(Financiado por Proyecto 1131, CONICYT.)

**RITMO CIRCADIANO DE CORTISOL EN OVEJA RECIENTE NACIDA** (Circadian rhythm of cortisol in newborn sheep). Parra-quez, V., Vergara, M., Llanos, A., Riquelme, R., Rayman, R. y Serón-Ferré, M. Laboratorio de Endocrinología, Fac. de Ciencias Biológicas, P.U. Católica de Chile. \*Lab. de Fisiología y Fisiopatología del Desarrollo, Ciencias Médicas Oriente, U. de Chile.

El cortisol plasmático presenta un ritmo circadiano en animales adultos, pero no en recién nacidos de humanos y ratas. En fetos de oveja el cortisol plasmático varía con un período de 24 h. En este trabajo investigamos la presencia de ritmo de 24 h de cortisol en corderos recién nacidos. Para esto, implantamos catéteres en la arteria y vena femorales en 18 corderos de entre 5 y 39 días de edad. El cortisol se midió por RIA en muestras tomadas cada 1 ó 2 h, durante 24 ó 48 h. Con los 18 corderos recién nacidos formamos 3 grupos experimentales. Los grupos G1 y G2 (< de 10 días y > de 10 días) fueron mantenidos bajo condiciones nocturnales (12 h luz: 12 h oscuridad). El grupo G3 (20 a 25 días de edad) fue mantenido bajo condiciones de luz continua. Las variaciones de cortisol plasmático fueron analizadas por función coseno usando un programa para computador Apple II. En recién nacidos mayores de 10 días de edad, observamos ritmo de cortisol plasmático de 24 h, ya sea bajo condiciones nocturnales ( $[F] = 16.3 + 5.45 \cos [15(t-13.65)]$ ,  $p = 0.014$ ), como bajo condiciones de luz continua ( $[F] = 17.1 + 3.39 \cos [15(t-7.86)]$ ,  $p = 0.02$ ). En corderos menores de 10 días no observamos ritmo de cortisol plasmático. Sin embargo, si se sincronizan los valores de cortisol de modo que  $\phi = 8$  h se observa un ritmo ( $[F] = 23.4 + 6.92 \cos [15(t-8)]$ ,  $p = 0.002$ ), esto sugiere que el ritmo estaría "free running".

Nuestros resultados muestran que en los corderos, ya a los 10 días de edad, existe un ritmo de 24 h de cortisol. Esto sugiere que posiblemente, el ritmo de cortisol plasmático puede estar presente desde las primeras horas de vida del cordero recién nacido.

Financiado por: DIUC 56/84, 75/86; Rockefeller 83016; DIB 2183-8733.

PRESENCIA DE ARSENICO EN PLANTAS DEL CURSO DEL RIO LOA (Arsenic presence in native plants on the river Loa course). Pastenes, J., Salgado, M., Jofré, V., Romero, A., Gavia, A., y Portillo, J. Laboratorio Biología Vegetal, Departamento Cs. Biológicas, Facultad Cs. Salud, Universidad de Antofagasta.

En trabajos anteriores se ha informado de las respuestas de plantas cultivadas al riego con agua con alto contenido de arsénico (río Loa) producidas en las localidades de Chiu-Chiu y Quillagua, sin embargo poco se sabe al respecto de su flora nativa.

El propósito de esta comunicación es determinar el contenido de As en plantas nativas y suelos del curso del río Loa. Para ello se muestrearon 4 sectores de este río en las desembocaduras de sus tributarios San Pedro de Inacaliri, Salado y Salvador y en el sector La Casca de Calama. Se colectaron muestras representativas de suelos superficial y plantas acuáticas y terrestres, 500 metros antes y después de la unión del río con sus afluentes, en éstos últimos y después de la Cascada. Se determinó As total y soluble por el método del dietilditiocarbamato de Ag, pH y conductividad eléctrica por métodos habituales.

Los resultados obtenidos señalan contenido de As total en las plantas de un rango intermedio a alto, captando mayores niveles plantas acuáticas, algunas con características de acumulación, que plantas terrestres. No se detectaron buenas correlaciones lineales entre la distribución de As en aguas y suelo y el contenido de este elemento en las plantas, sus respuestas fueron más bien localizadas, de acuerdo a las condiciones de crecimiento de cada sector. Se discute el potencial de cultivo de los tromos estudiados en función de su contenido salino y de As.

Financiamiento Proyecto INDES.U. de Antofagasta

ESTUDIO FARMACOLOGICO DE AURICULAS AISLADAS DE Liolaemus gravenhorsti (Pharmacological study in the isolated atria of Liolaemus gravenhorsti) Paz de la Vega, Y. y Villalobos, M. Departamento de Ciencias Clínicas (Farmacología), Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

El comportamiento farmacológico de la aurícula aislada de Liolaemus gravenhorsti (L. g.) se ha analizado considerando las modificaciones de la actividad auricular, en presencia de fármacos y neurotransmisores del Sistema Nervioso Autónomo, demostrándose la presencia de receptores adrenérgicos y colinérgicos, así como el bloqueo de dichos receptores por sus antagonistas específicos.

Los resultados obtenidos permitieron establecer que la respuesta a los fármacos adrenérgicos estaría mediada por receptores beta. Receptores muscarínicos regularían la actividad de fármacos colinérgicos.

La probable presencia de receptores a aminas biógenas, histamina y 5-hidroxitriptamina, no ha sido aún demostrada en estas preparaciones.

Mediante la técnica clásica para órganos aislados y registro de la actividad auricular, frecuencia y amplitud de la contracción, se estudia la respuesta de aurículas aisladas de L. g. a histamina y 5-hidroxitriptamina.

Los resultados preliminares obtenidos, permiten determinar que la respuesta de la aurícula a estas aminas, es de tipo estimulante.

RESPUESTA ADRENERGICA Y COLINERGICA EN LA PRESION ARTERIAL DE O. DEGUS. (Adrenergic and cholinergic response in the arterial pressure on the O. degus). Pelissier, F., Saavedra, H. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

El O. degus ha demostrado ser resistente en relación a la rata varios efectos de morfina, entre ellos la modificación de la presión arterial y la frecuencia respiratoria. Nos interesó estudiar en estos mismos parámetros la acción de noradrenalina (NA) y acetilcolina (ACh).

Se utilizó el registro de presión arterial media, frecuencia respiratoria y cardíaca en una preparación in vivo. Se inyectaron vía femoral dosis crecientes de NA y ACh entre 2 y 1000 µg/kg en ambas especies y hasta 8 mg/kg de NA solo en el O. degus.

Dosis bajas de NA provocan elevaciones significativas de la presión arterial en la rata no modificando la del O. degus. Dosis mayores, a 0.031 mg/kg provocan alzas paulatinas de la presión arterial en la rata hasta provocar la muerte del animal con 1 mg/kg, en cambio en el O. degus se obtiene un efecto máximo de 40% en que no aumenta con dosis tan altas como 8 mg/kg.

La administración de una dosis 16 veces superior a la letal para la rata no aumenta el porcentaje de disminución de la frecuencia cardíaca en el O. degus. NA en la rata produce una disminución de la frecuencia respiratoria en función de la dosis, en cambio en el O. degus induce un aumento en este parámetro. La administración de diferentes dosis de ACh no produce diferencias significativas en las respuestas de ambas especies.

El O. degus presenta una mayor resistencia a los efectos presores de NA con respecto a la rata, lo que puede atribuirse al mayor tamaño relativo de su médula adrenal condición que se relaciona probablemente a que su supervivencia está basada en respuestas rápidas de fuga. (Proyecto B.1677.8644. DIB, Universidad de Chile).

AVANCES EN MORFOGENESIS: EL NEFRON MESONEFRICO HUMANO VISTO POR MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO. (Progress in morphogenesis: The human mesonephric nephron as seen by scanning electron microscopy). Pereda, J., Pozo, J. y Torres, J. Laboratorio de Embriología y Microscopía Electrónica, Facultad de Medicina, Div. Cs. Med. Sur, Universidad de Chile.

La microscopía electrónica de barrido (SEM) ofrece amplias ventajas en la exploración de superficies tisulares. Por ello, en este trabajo intentamos estudiar los cambios morfológicos que ocurren en las superficies epiteliales del nefron mesonefrico humano y del conducto de Wolf, en función del espacio y en relación a la edad gestacional, como una forma de medir el grado de desarrollo de la función secretora temprana del mesonefros.

Mesonefros provenientes de 3 embriones humanos de 30, 33 y 37 días de gestación, se procesaron para microscopía electrónica y SEM según técnicas convencionales, observándose: 1 - En el embrión de 30 días una capsula de Bowman primitiva con espacio urinario reducido. El conducto de Wolf, canalizado en el polo cefálico proyectándose como un cordón celular macizo hacia el polo caudal del mesonefros. 2 - En el embrión de 33 y 37 días, la presencia de un espacio urinario amplio y de un epitelio visceral constituido por células piriformes con abundantes y complejas proyecciones citoplasmáticas que penetran hacia la basal (podocitos). Además, el conducto de Wolf estaba canalizado en toda su longitud siendo su diámetro en el polo caudal (80 µm) el doble que en el polo cefálico (45 µm).

Nuestros resultados, además de mostrar por primera vez el riñón mesonefrico humano por SEM, nos permiten establecer positivas relaciones temporales y espaciales entre la organización estructural néfrica y el conducto de Wolf, las que serían sugerentes de una temprana funcionalidad de este órgano en el humano.

ANÁLISIS DE LA FRECUENCIA DE QUIASMAS Y CLASTOGENESIS INDUCIDA POR METIL METANOSULFONATO (MMS) EN CROMOSOMAS MEIÓTICOS DE *Schistocerca cancellata* (Orthoptera, Acrididae) (Analysis of chiasma frequency an induced clastogenesis by MMS in meiotic chromosomes of *Sch. cancellata*) Pérez-Alzola, L.P., Ellahueñe, M. y Lafuente-Indo, N., Lab. de Genet. Toxicológica, Depto. de Patología, Fac. de Odontología, Universidad de Chile.

En trabajos anteriores se ha demostrado que los cromosomas meióticos de *Sch. cancellata* son buenos indicadores de clastogenia inducida por compuestos químicos y que la frecuencia de quiasmas se ve aumentada por la acción de drogas como ciclofosfamida y actinomicina-D.

El presente trabajo forma parte de la estandarización de un control positivo en esta especie, usando un mutágeno fuerte y de acción directa como es MMS. Se calculó una dosis alta, pero que no produzca efectos tóxicos 50 mg/Kpc, inyectados en 0,05 ml de aceite de maíz, los controles recibieron igual volumen de aceite. Se usaron tres individuos tratados y dos controles para cada tiempo (24,48,72 hrs.), y se analizaron 20 células por individuo.

Los resultados indican que MMS no tiene efecto sobre la frecuencia de quiasmas, pero sí se observa la respuesta clastogénica esperada para este tipo de compuesto, la que se analiza de acuerdo al tiempo en que se indujo el daño en la célula.

Los datos se discuten y comparan con los antecedentes previos, obtenidos en el laboratorio, para otros compuestos alquilantes; además, se discute el posible efecto citotóxico que se manifiesta en el bajo número de células en diploteno.

PREPARACION Y CARACTERIZACION DE ANTICUERPOS MONOCLONALES DIRIGIDOS CONTRA LA PIRUVATO DE QUINASA DE LEVADURA. (Preparation and characterization of monoclonal antibodies against yeast pyruvate kinase). Pérez, C., Barnier, R. y Eyzaguirre, J., Laboratorio de Bioquímica e Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La piruvato quinasa (PK) de levadura es una enzima alostérica activada por fructosa 1,6 bis fosfato. El objetivo final de este proyecto es identificar en la estructura de la enzima la localización del sitio alostérico, reconociéndolo mediante marcadores sitio-específicos como son los anticuerpos monoclonales (Ab).

PK purificada fue inyectada en ratones Balb/c. Al cabo de 2 meses se alcanzaron títulos adecuados de anticuerpos, y se realizó una fusión con mieloma NBO/2. Se seleccionaron hidridomas mediante ELISA y por su efecto inhibitorio sobre la actividad enzimática. Después de reclonar se seleccionaron 4 clones, 2 productores de Ab inhibitorios de actividad, y 2 que mostraron solamente ELISA positivo. Ellos fueron expandidos en líquido ascítico de ratones, y los Ab fueron purificados mediante ácido caprílico.

Los 4 Ab pertenecen al grupo IgG<sub>1</sub>, y presentan reactividad cruzada con la PK de músculo de conejo y músculo de gato. Dos de ellos previenen el efecto de inactivación producido por la disociación de las subunidades de la PK de levadura causado por FdP, sugiriendo que se unen a epítopes ubicados en más de una sub-unidad.

Este trabajo ha sido financiado en parte por el proyecto DIUC 78/87.

EFFECTO DIURETICO Y VASCULAR DE BREMAZOCINA, UN KAPPA-OPIOIDE, EN RATAS DESPIERTAS Y ANESTESIADAS CON DIFERENTES FARMACOS. (Diuretic and vascular effects of breamazocine, a K-opiate agonist, in awake and anesthetized rats exposed to several types of anesthetics). Pérez, A., Godoy, J., Candia, S. y Roblero, J. Depto. de Ciencias Fisiológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Fármacos con afinidad por el receptor K-opioide como breamazocina (B) o tifludom producen diuresis acuosa por activación de mecanismos centrales y renales. Para conocer sobre los mecanismos centrales, relacionados con la acción diurética de B, se investigó el efecto de B en ratas despiertas y en ratas anestesiadas con barbitúricos, éter, cloralosa o halotano. En todos los animales se midió la presión arterial carotídea mediante un transductor de presión, se midió diuresis y concentración de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> urinario. La administración de B se hizo a través de una cánula instalada en la vena femoral o yugular derecha. Se observó que en las ratas despiertas B (10-40 µg/kg) produce un aumento dosis-dependiente de la presión arterial que dura más de 20 minutos y una diuresis acuosa proporcional a la dosis empleada. En animales anestesiados con éter, cloralosa o halotano la respuesta presora característica de 30 µg B/rata se atenúa o desaparece. En ratas anestesiadas con pentobarbital o con fenobarbital B producen una marcada vasodilatación dosis dependiente y aumento de la diuresis con un incremento en la excreción total de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>. Pretratamiento con 1 mg/kg naloxona bloquea el efecto vascular pero no el diurético de B que requiere de mayores dosis de naloxona para su bloqueo. Tanto los efectos vasculares como diuréticos de B no se modifican en animales pretratados 24 h antes con β-FNA, indicando que el efecto de B se debe a una acción predominantemente K-opioide. Se concluye que la respuesta vascular periférica inducida por B depende en gran medida de excitabilidad central y que ésta no se asocia directamente con el efecto diurético de B.

Proyecto CONICYT 1416/86.

ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL DE LA INTERACCION GAMETICA EN *Rhynchocinetes typus*. (Ultrastructural study of gamete interaction in *Rhynchocinetes typus*). Pérez, C. y Barros, C. Laboratorio de Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Estudios in vitro han demostrado que la fecundación de *Rhynchocinetes typus* es normalmente monoespérmica por esta razón hemos intentado inducir poliespermia para aumentar las probabilidades de obtener secciones de espermatozoides en el proceso de fecundación a fin de realizar un estudio ultraestructural de este fenómeno.

Tratamientos con pronasa preparada al 0,005% en agua permitieron la remoción de la envoltura externa y de la cubierta fenestrada del ovocito. Estos al ser inseminados in vitro con espermatozoides del conducto deferente eran consistentemente poliespérmicos y se veían penetrados por 10 o más espermatozoides. Cortes finos y semifinos de huevos poliespérmicos permitieron establecer que la formación del cigoto se inicia entre las microvellosidades del ovocito y el extremo más distal del proceso acicular a través de un proceso de fusión de membranas.

Una vez que se completa la incorporación del espermatozoide dentro del citoplasma ovocitario los componentes espermáticos se ubican primero en el cortex ovocitario y más tarde se profundizan en el citoplasma ovular. El proceso acicular, su base, los radios estriados y las pinas radiales persisten en el citoplasma ovular por más de seis horas sin experimentar modificaciones importantes. Una comparación de la formación del cigoto en mamíferos y en *R. typus* permitió establecer que en este último el proceso acicular sería análogo al acrosoma del espermatozoide de mamíferos ya que este organelo tiene una actividad lítica sobre la cubierta fenestrada del ovocito, de la misma manera que el acrosoma la ejerce sobre la zona pelúcida del ovocito de mamífero.

También en ambos grupos la formación del cigoto ocurre a través de un proceso de fusión de membranas.

Financiado por Grant 74/87 DIUC y Fundación Rockefeller GA PS 8710.

LOCALIZACION INMUNOHISTOQUIMICA DE LA  $Mg^{2+}$  ATPasa EN MUSCULO ESTRIADO DE RANA. (Immunocytochemical localization of frog skeletal muscle  $Mg^{2+}$  ATPasa). Pérez, G. y Rosemblatt M. Unidad de Inmunología Celular. INTA. Universidad de Chile.

La enzima  $Mg^{2+}$ -ATPasa es un componente molecular importante de la membrana de túbulo-T de músculo estriado; por ejemplo un 85% de la proteína integral de membrana en músculo estriado de pollo corresponde a esta enzima (Sabbadini y col. J. Biophys 51, 346a 1987). Sin embargo su función permanece aun desconocida. Por otro lado, actualmente se le asigna una ubicación subcelular específica a nivel de la membrana del túbulo-T.

En el presente trabajo se prepararon anticuerpos monoclonales (AcMo) dirigidos contra componentes de los túbulos-T de músculo de rana, inmunizando ratones BALB/c con una fracción de membrana de túbulos-T altamente purificada. Se obtuvo una serie de AcMo, seleccionados por ELISA contra diferentes preparaciones de membrana de músculo estriado. De estos, tres reconocen en Immunoblot una proteína de peso molecular similar al descrito para  $Mg^{2+}$  ATPasa (107.000). Uno de estos anticuerpos 2/34.4 activa la enzima hasta en un 300% (trabajo realizado en colaboración con Hidalgo, Jaimovich y col. Lab. Biofísica, Facultad de Med. Norte. U. de Chile).

Con el fin de investigar la localización subcelular de la enzima se realizaron estudios de inmunofluorescencia en cortes. Los resultados muestran patrones de fluorescencia en la miofibrilla asociado a dos estructuras subcelulares, banda I (rica en túbulos-T) y Sarcolema (SL). No se obtuvo fluorescencia significativa a nivel de la banda A (rica en retículo sarcoplásmico). Resultados en ELISA señalan que las membranas parcialmente purificadas de SL no reaccionarían con el AcMo 2/34.4; esto estaría en aparente discrepancia con los resultados de inmunofluorescencia. La significación de estos datos será discutida.

Financiado por DIB B-2397/8722 Universidad de Chile.

ASIMETRIA INTERHEMISFERICA EN LA CORTEZA PREFRONTAL DE LA RATA: ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO (Interhemispheric asymmetry in the rat prefrontal cortex: Electrophysiological study). Pérez, H. y Ruiz, S. Unidad de Neurofisiología y Biofísica, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Chile.

En los últimos años se han descrito asimetrías interhemisféricas en la rata, tanto anatómicas (grosor cortical), neuroquímicas (niveles de catecolaminas) y conductuales (preferencias de lado). Sin embargo, desde el punto de vista electrofisiológico existe escasa información en relación a asimetrías interhemisféricas en esta especie animal. En el presente estudio se comparó las respuestas evocadas en la corteza prefrontal izquierda y derecha por estimulación de la región cortical homóloga contralateral.

Los experimentos se realizaron en ratas Wistar hembras, anestesiadas con alfa-cloralosa, curarizadas y bajo respiración artificial. Tanto la estimulación como el registro de la actividad evocada cortical se llevó a cabo mediante electrodos bipolares trenzados de acero inoxidable (100  $\mu$ m) con separación de puntas de 1.5 mm, ubicados en las coordenadas A: 11.0, L: 2.0 mm.

Las respuestas interhemisféricas registradas en la corteza prefrontal derecha (comparada a la región homóloga izquierda) mostraron: (i) menor fatigabilidad a la estimulación repetitiva ( $P < 0.025$ ); (ii) máxima sujeción temporal al doble shock con intervalos interestimulos menores ( $P < 0.005$ ); (iii) curvas intensidad-duración del estímulo, similares. Los resultados indican que en la rata existen diferencias funcionales entre ambos hemisferios cerebrales, en relación a sistemas sinápticos involucrados en la respuesta transcortical.

(Proyecto DIB. N° B-2528).

ARGENTINA VASOPRESINA (AVP) JUEGA UN ROL EN LA RESPUESTA CARDIOVASCULAR FETAL A LA HIPOXEMIA (H). (Arginine vasopressin does play a role in the fetal cardiovascular responses to hypoxemia). Pérez, R., Espinoza, M., Riquelme, R. y Llanos, J.A. Depto. Preclín. Cs. Méd. Oriente, Fac. Med. Depto. Bioq. Biol. Mol. Fac. Cs. Quím. Farm. Universidad de Chile. (Patrocinio: J.A. Llanos).

Como la concentración plasmática de AVP aumenta durante la H y la administración exógena de AVP reproduce algunas de las respuestas cardiovasculares fetales observadas durante la H, investigamos el efecto de un antagonista de AVP ( $\alpha(CH2)5Tyr(Me)AVP$ , antiAVP) sobre los cambios de presión arterial, frecuencia cardíaca, gasto cardíaco y su distribución en 10 fetos de ovejas cateterizados crónicamente (0.8 - 0.9 gestación), sometidos a una H aguda (% Sat Hb:  $60.7 \pm 3.5$  a  $30.7 \pm 0.5$ ). La H fetal se logró administrando durante 40 min  $N_2$  95% y  $CO_2$  5% a través de un catéter traqueal materno. El antiAVP se administró como bolus 30  $\mu$ g/Kg + infusión de 0.5  $\mu$ g/min x Kg. Mediciones del gasto cardíaco y su distribución fueron realizadas con microesferas radioactivas al finalizar períodos de 20 min: control, H sola e H + infusión (antiAVP o NaCl 0.9%). El antiAVP revierte parcialmente la hipertensión y bradicardia inducida por la H. AntiAVP aumentó el flujo sanguíneo umbilical (23 + 4%), intestinal (51 + 19%) y disminuyó el flujo cerebral (29 + 12%) con respecto a la H sola. Los fetos infundidos con NaCl 0.9% mantienen las mismas respuestas que en la H sola. Las resistencias vasculares ( $\text{mmHg}/(\text{ml}/\text{min} \times 100\text{g})$ ) fueron:

	Basal	Hipoxemia	H + antiAVP
Resistencia vascular			
Umbilical	$2.24 \pm 0.30$	$2.59 \pm 0.20^*$	$1.88 \pm 0.20^{\#}$
Intestino	$1.11 \pm 0.16$	$2.77 \pm 0.57^*$	$1.47 \pm 0.21^{\#}$
Cerebro	$0.29 \pm 0.02$	$0.19 \pm 0.02^*$	$0.27 \pm 0.05^{\#}$

Media  $\pm$  E.S.M. \*  $P < 0.05$  vs Basal #  $P < 0.05$  vs Hipoxemia.

De estos resultados se infiere que AVP durante la H aumenta la presión arterial por aumento de la resistencia vascular umbilical e intestinal y disminuye la resistencia vascular cerebral que favorece el aumento de flujo sanguíneo al encéfalo. El aumento de flujo umbilical con antiAVP en la H aguda abre posibilidades de que antiAVP aumente el flujo umbilical en la H fetal crónica, condición que se acompaña de disminución del flujo umbilical y retraso del crecimiento intrauterino. DIB B-2183-8733, Universidad de Chile.

EFFECTO DE LA EXPANSION DEL POOL DE ACIDO COLICO SOBRE LA CAPTACION DE TAUROCOLATO POR HEPATOCITOS AISLADOS (Effect of cholic acid pool expansion on taurocholate uptake by isolated hepatocytes). Persico, R., Maldonado, M., Pizarro, M. y Accatino, L. Depto. de Gastroenterología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: Dr. V. Valdivieso).

Existen evidencias que la velocidad máxima de secreción ( $V_{Sm\acute{x}}$ ) de taurocolato (TC) en el hígado, determinada por el transporte de TC a través de la membrana canalicular de los hepatocitos, aumenta significativamente en ratas en las que el pool y el flujo transhepatocelular de ácido cólico (AC) han sido aumentados. Se ha sugerido que el incremento de la  $V_{Sm\acute{x}}$  de TC dependería del aumento de la síntesis de transportadores de la membrana canalicular. La captación de TC por hepatocitos es mediada por un sistema de transporte activo secundario en la membrana sinusoidal. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la expansión del pool de AC sobre la captación de TC por hepatocitos. Se aislaron hepatocitos de ratas controles y con pool expandido mediante la administración de 200 mg/día de AC con una sonda gástrica durante 4 días. La captación de  $TC-C^{14}$  (1 a 100  $\mu$ M) se determinó por ultrafiltración. Las velocidades iniciales se midieron a intervalos de 15 seg. durante 1 min. La viabilidad celular fue igual para los hepatocitos de ratas controles y con pool expandido. La captación de  $TC-C^{14}$  fue lineal en el tiempo para todas las concentraciones estudiadas. Según la cinética de captación, la  $V_{m\acute{x}}$  de las células de ratas con pool expandido fue un 100% superior comparada con las controles. En cambio la  $K_m$  del proceso no se modificó. Estos resultados indican que la expansión del pool de AC determina un aumento en la capacidad de transporte de TC en la membrana sinusoidal y sugiere que el mecanismo puede ser similar al que se ha propuesto para la membrana canalicular.

Financiado por Proyectos: DIUC 93/86 y CONICYT 0266/84.

EL NUCLEO DEL ESPERMIO CONTIENE RNA (The Sperm Nucleus Contains RNA) PESSOT, C., Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia (PATROCINIO: Ilona I. Conchal).

Durante la diferenciación de la espermatida haploide ocurre un dramático proceso de reorganización del núcleo, el cual culmina en muchos casos con la formación de un complejo DNA-protamina. Resultado de esto es la formación de un núcleo extremadamente compacto y transcripcionalmente inactivo. Además existe consenso que en fertilización el espermio sólo aportará el complemento haploide de DNA.

Derivado de estudios sobre expresión génica durante espermatogénesis hemos encontrado que el núcleo de espermios testiculares de rata se tiñen marcadamente con RNAasa-oro coloidal, procedimiento bastante específico para RNA. Similares resultados se obtuvieron con espermios de epidídimo. Extracción de RNA y análisis electroforético (poliacrilamida-7M urea) demostró la presencia de una población compleja que va desde RNA ribosomal a 4.5S. Se determinó un promedio de 0.2 pg de RNA por núcleo espermático, o sea menos del 10% del contenido de DNA. Destaca la presencia de bandas que migran como U-RNA. Algunos de las proteínas de la cabeza del espermio son reconocidos por dos anticuerpos anti-Sa (pacientes K y E con lupus; análisis por "western-blot") los cuales son específicos para proteínas de RNP que contienen U-RNA (U<sub>1</sub>, U<sub>2</sub>, U<sub>4</sub>, U<sub>5</sub> y U<sub>6</sub>). Mediante inmunocitoquímica ultraestructural, estos anticuerpos y un anticuerpo específico para la estructura cap de los U-RNA (metil 2,2,7 guanósina) tiñen marcadamente el núcleo espermático. Similares resultados se obtuvieron con espermios humanos y de moluscos lo que sugiere que la presencia de RNA es un fenómeno común. Los resultados se discutirán en torno a la hipótesis de "RNA paterno" y su putativo rol en desarrollo embrionario temprano. (Financiado por proyecto RS-85-10 DID U.A.CH., 1/61 457 Stiftung Volkswagenwerk, Alemania y Proyecto N° 186 FONDECYT).

ESTUDIO FARMACOCINETICO EN EQUILIBRIO ESTABLE DE FORMULACIONES DE LIBERACION CONTROLADA DE TEOFILINA. (Pharmacokinetic study in steady state of sustained release formulations of theophylline). Pezoa, R., Gal, M. N., Gutiérrez, C. Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. (patrocinio: A. Arancibia O.).

Se estudian las características farmacocinéticas de un preparado de liberación controlada de 300 mg. de Teofilina, desarrollado en nuestro laboratorio, en comparación con las de un producto del mercado, en forma de cápsula.

Las experiencias se realizaron en el equilibrio estable en estudio cruzado, en seis voluntarios sanos, de sexo masculino, no fumadores. Los voluntarios recibieron, en ocasiones diferentes, la cápsula y el comprimido en estudio.

La Teofilina se valoró en el plasma, por un método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se determinaron el área bajo la curva de concentración plasmática versus tiempo (ABC), las concentraciones máxima y mínima en el equilibrio estable, la concentración a las 24 horas, el tiempo máximo (t máx) y la constante de velocidad de eliminación aparente.

Se utilizó el t de Student pareado para determinar las diferencias de los parámetros, en ambas situaciones.

Con los dos preparados se lograron concentraciones plasmáticas apropiadas, dentro del margen terapéutico durante todo el intervalo de dosificación.

Proyecto FONDECYT 0097/85

ESTUDIO DE LAS FUNCIONES VIRALES DE ROTAVIRUS SA-11 A TIEMPOS TEMPRANOS DE INFECCION. (Study of the viral functions of SA-11 rotavirus at early times of infection). Pizarro J. y Spencer E. Unidad de Virología. INTA. Universidad de Chile.

Rotavirus es un virus de la familia Reoviridae cuyo genoma está constituido por 11 segmentos de RNA de doble hebra y su cubierta por al menos 6 polipéptidos. El virión se reproduce en cultivos celulares de células MA-104 de riñón de mono rhesus fetal. El ciclo infectivo comienza con la pérdida de la cubierta externa, iniciando al cabo de 2 horas de post-infección, la síntesis del mRNA viral. En estudios de marca con <sup>3</sup>H-Uridina se observa que todos los mRNA son sintetizados al mismo tiempo. En estudios de marca con <sup>35</sup>S-Metionina se observa que a las 3 horas después que el virus las células, comienza la síntesis de los polipéptidos virales en la que se detecta una traducción preferencial de algunos de ellos. Bajo estas condiciones de infección, la replicación del genoma se inicia a 4 horas de post-infección, siendo equivalentes para todos los segmentos del genoma. Con el fin de relacionar el inicio de la replicación con la aparición de los polipéptidos virales que están siendo sintetizados, se hicieron estudios de inhibición con Cicloheximida. Los resultados indican que la replicación viral se inicia sólo después que son sintetizados los polipéptidos virales VP1, VP2, VP3, VP6, NS34 y NS35. Se investigó la posibilidad de aislar intermediarios estructurales virales que realicen la función de replicar el RNA, mediante el análisis de extractos de células infectadas sedimentadas en gradientes de CsCl y observadas por microscopía electrónica.

Financiado por proyecto Fondecyt #153 y DIB #B.21758734 de la Universidad de Chile.

EFFECTO DE MERCURIO II EN GAMETOS, FECUNDACION Y DESARROLLO EMBRIONARIO EN ERIZO NEGRO *TETRAPYGUS NIGER*. (Effects of mercuric mercury (Hg<sup>2+</sup>) in gametes, fertilization and embryonic development of sea urchin *Tetrapygus niger*). Ponce, O.; Magaña, A. y Enríquez, S. Dpto. Biología Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción. (Patrocinio: L. Chiang).

Se ha demostrado presencia de Mercurio en concentraciones subletales (0.25 ppm) en el sedimento y organismos de las costas de la VIII Región del Bfo-Bfo, Chile.

En esta comunicación se presentan sus efectos letales y teratogénicos en la especie *Tetrapygus niger*.

Espermatozoides tratados con Mercurio II 0.27 ppm pierden su motilidad a los 20 min. A concentración 1.35 ppm la motilidad se pierde al minuto. Espermatozoides tratados con Mercurio II 0.27 ppm por 10 min, con motilidad normal, al ser usados en fecundación retardan el desarrollo embrionario y producen estados de pluteus con marcados efectos teratogénicos. Huevos expuestos a Mercurio II 5.4 ppm y fecundados, producen estados de 2 células y a partir de este estado solo uno de los dos blastómeros se desarrolla. Diferentes estados del desarrollo embrionario con Mercurio II 0.27 ppm detienen su desarrollo y mueren. Blastulas tratadas con Mercurio II 0.0168 ppm originan pluteus con malformaciones.

Se discute la posibilidad que en el medio acuático natural estos efectos del Mercurio u otro metal pesado se puedan producir en todos los organismos de la biótica marina que se producen por fecundación externa.

Proyecto 20.31.20 Universidad de Concepción.

**ESTUDIO DE LA DEGRADACION PLASMATICA IN VITRO DE MET-ENCEFALINA.** (Studies of the in vitro plasma degradation of met-enkephalin).

J. Puente, M. Wolf y A.D. Mosnaim. Univ. Health Sciences/Chicago Medical School and Loyola University, N. Chicago, II. U.S.A. y Depto. Bioquímica y Biología Molecular. Fac. Cs. Química y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Se ha sugerido que los neuropéptidos leu-encefalina y met-encefalina participan en la modulación de la respuesta al dolor y en procesos adictivos. Los niveles plasmáticos (10-10 M) pueden variar significativamente en diversas situaciones patológicas. Se conocen los mecanismos de degradación de leu-encefalina, pero no los de met-encefalina.

Usando plasma humano normal y (<sup>3</sup>H-tir) met-encefalina como sustrato, hemos encontrado que el único enlace hidrolizado (> 95%) es el tir-gli, lo que implicaría la participación sólo de aminopeptidasas en esta reacción. Los productos fueron separados en columnas de PORAPAQ Q y analizados por TLC y autorradiografía. Los valores de t<sub>1/2</sub>, Km y V<sub>max</sub> de esta aminopeptidasa son respectivamente 12,8 ± 2,5 min; 0,70 ± 0,01 mM y 17,90 ± 1,05 umoles/min/L, similares a los informados para leu-encefalina. Esta reacción fue inhibida por bestatina y puromicina, conocidos inhibidores de la aminoencefalinas del sistema nervioso central, pero no por tirofano y captopril. Estas propiedades, y los informes de otros autores, permiten suponer que la aminopeptidasa involucrada es diferente a otras aminopeptidasas plasmáticas descritas y podría ser un factor importante en el control de los niveles plasmáticos de estos neuropéptidos.

Financiado por The Veterans Administration and The National Headache Foundation.

**RESPUESTA DE PLANTULAS DE CITRICOS A LA INFECCION POR HONGOS.** (Citrus seedlings response to infection by fungi). Quaaas, A., Pavani, M. Dep. Bioq. Biol. Mol., Fac. Cs. Quím. Farm. y Dep. Bioq. Fac. Med. U. de Chile. (Patrocinio: A.M. Kettlun).

Los tejidos vegetales responden a la infección por agentes patógenos, sintetizando metabolitos secundarios llamados fitoalexinas.

Se obtuvieron plántulas de diferentes especies de cítricos, a partir de semillas germinadas en condiciones de temperatura y humedad establecidas en el laboratorio. Las plántulas que presentaron un largo de hipocotilo de 5 cm y de raíz de 10 cm, se esterilizaron con hipoclorito y se infectaron con esporas de *Trichoderma harzianum*, *T. aureoviride* ó *Penicillium digitatum*.

Se observó un aumento de 100% de la actividad de la fenilalanina amonioliasa (PAL) a las 12 horas de la infección, con respecto a los controles; y la aparición de dos metabolitos secundarios, distintos a los existentes en las plántulas sanas. Solamente los extractos de plántulas infectadas, inhibieron el desarrollo de los hongos usados para la infección.

Los resultados indican que las plántulas de cítricos responden a la infección por hongos: a) estimulando la actividad de la PAL, enzima de la vía fenilpropanoide y b) sintetizando metabolitos de defensa que inhiben el desarrollo de los hongos, cuya estructura sería la de flavonoide o cumarina, con actividad de fitoalexina.

Trabajo dirigido por Luz M. Pérez y financiado por proyectos 9/ 87 de FONDECYT y AC/ 3089 International Foundation for Science.

**EVIDENCIAS DEL TRANSPORTE ACTIVO DE CLORUROS EN LA PREPARACION NEURO-PIEL DE RANA.** (Evidence of the active transport of chloride in a frog nerve skin preparation) Quevedo, L., Cárdenas, H., Silva, M. y Hoenersen, M. Depto. de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción.\*

La estimulación de una rama del nervio ciático que inerva la piel de la extremidad inferior de *C. caudiverbera* produce un aumento en la diferencia de potencial (DP) y de la corriente de Corto circuito (CCC). Esta respuesta no es afectada al reemplazar el Na<sup>+</sup> por colina en el lado mucosal, ni al bloquear el transporte activo de Na<sup>+</sup> con amilorida 10<sup>-4</sup>M. En cambio esta respuesta es inhibida cuando el Cl<sup>-</sup> serosal se reemplaza por isetionato o se bloquea su transporte con Furesamida o bumetanida.

Dado que el bloqueo del transporte activo de Na<sup>+</sup> no afecta la respuesta al estímulo nervioso y por el contrario ella es inhibida por bloqueadores del transporte activo de cloruros, se postula que el aumento de la DP y de la CCC se debería al transporte activo de Cl<sup>-</sup> del lado serosal hacia el luminal. El efecto es dependiente de receptores beta adrenérgicos ya que es anulado por propanolol y no por dibenamina.

\* Proyecto 20.33.23 y 20.33.20  
Dirección de Investigación. Universidad de Concepción.

**BLOQUEO DE LA RESPUESTA PRESORA DE LA DOPAMINA POR FEN TOLAMINA.** (Phentolamine blocks the pressor response of Dopamine). Quevedo, M., Prieto, J.C., Doepking, W. y Pérez-Olea, J. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

El efecto hipotensor de la dopamina (DA) en la rata es revertido por el pretratamiento con los siguientes fármacos: 6-OH-DA (destrucción de la terminación adrenérgica), Sulpiride (S) (bloqueador DA<sub>2</sub>) y SCH23390 (bloqueador DA<sub>1</sub>). La presunción de que el receptor alfa-adrenérgico pudiera ser responsable de la respuesta hipertensiva, motivó el uso de fentolamina (FEN).

Las ratas fueron anestesiadas con uretano al 10% (1 ml/100 g i.p.), registrándose la presión arterial (I) intracarotidea y el ECG en DII en un polígrafo Grass modelo 5D. Se inyectó FEN 0.5 mg/100 g i.v. en tres grupos experimentales: 1) en ratas pretratadas 2 hrs. antes con 6-OH-DA (3.0 mg/100 g i.p.); (N=10); 2) 5 minutos antes de S (50.0 µg/100 g i.v.) (N=11); 3) 5 minutos antes de SCH23390 (64.0 µg/100 g i.v.) (N=9). Cinco minutos después de completadas estas etapas se inyectó DA en dosis de 3.12 a 25.0 µg/100 g en los animales de cada serie.

Los resultados demuestran que la FEN determinó hipertensión en el grupo tratado con 6-OH-DA, una respuesta presora de escasa magnitud en el grupo pretratado con S y un efecto presor mayor que el obtenido en el grupo 2, pero significativamente inferior a su control en el grupo 3.

Se concluye que la respuesta hipertensiva de la DA en las 3 condiciones analizadas se debe a la estimulación del receptor alfa adrenérgico.

REDUCCION DE GRAMINEAS CAUSADA POR LA ALIMENTACION DE DOS ACRIDIDAE (ORTHOPTERA). (Reduction of wheatgrass by the feeding of two Acrididae (Orthoptera). Quezada, A.E., Jarpa, E.G. y Torrejón, G.A. Dpto. Zoología y Dpto. Matemática, Universidad de Concepción. BIOTECMAR, Universidad Católica de Chile, Sede Talcahuano. (Patrocinio: M.E. Almonacid).

El impacto de las distintas especies de langostas en praderas naturales y campos de cultivo, ha sido documentada por numerosos investigadores durante los pasados 50 años (Hewitt, 1978). La mayoría de las estimaciones de las pérdidas de forraje se han hecho sobre la base de la alimentación de poblaciones de insectos en el terreno o de individuos en el laboratorio, existiendo escasa información acerca de la destrucción diaria, hecha por los estados postembrionales de langostas. El objetivo de este trabajo es determinar la reducción de forraje (consumido + destruido) por dos especies de Acrididae en praderas mixtas naturales. Se eligieron: *Dichroplus elongatus* G. Tos y *D. maculipennis* (Blanchard) Lieb., por su importancia económica y sus preferencias por la gramínea *Piptochaetium montevidensis* Parodi, abundante en las praderas mixtas del Parque Hualpén (36°47'S; 73°10'W), área de estudio, ubicado a 16 Km. de Concepción, en las cercanías de la desembocadura del río Bío-Bío. Los tratamientos de alimentación fueron realizados por ofrecimiento de muestras de la planta preferida del hábitat común, a poblaciones en jauladas de cada especie, con el objeto de estimar la cantidad consumida y destruida por ellas durante los correspondientes períodos de alimentación. Los resultados entregaron que las langostas en estado adulto, en promedio/día, producen mayor reducción del forraje que los estadios 4° y 5°. Hubo una relación entre la cantidad de alimento consumido y el peso de los ejemplares, y la cantidad de forraje que cortaron sin consumir fue pequeña.

Proy. N° 20.38.07, Dir. Investig., Univ. Concepción.

EFFECTOS DEL CONSUMO CRONICO DE ETANOL SOBRE LA RESPIRACION MITOCONDRIAL HEPATICA Y LA OXIDACION DE ACETALDEHIDO EN RATAS UCHA Y UCHB. (Effects of chronic ethanol consumption upon liver mitochondrial respiration and acetaldehyde oxidation in Ucha and UChB rats).

Quintanilla, M.E. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

En ratas de los linajes UCHA (bajo consumidor de etanol) y UCHB (alto consumidor de etanol) se estudiaron los efectos del consumo crónico de etanol sobre diversos parámetros de la función mitocondrial hepática (O<sub>2</sub>, CR y ADP/O) y sobre la oxidación del acetaldehído.

Para este efecto se aislaron mitocondrias de hígado y se estudió el consumo de oxígeno mitocondrial con sustratos que se oxidan a nivel de los sitios I, II y III de fosforilación y con acetaldehído. La oxidación de acetaldehído se cuantificó mediante cromatografía de gases.

Los resultados demuestran que ratas UCHA y UCHB que nunca han tenido acceso al etanol no presentan diferencias en la función mitocondrial ni en la capacidad de oxidar el acetaldehído. Las mitocondrias de hígado de ratas UCHA que consumieron diariamente un promedio de 2.3 + 0.9 g de etanol/kg peso no presentaron alteraciones de la cadena respiratoria y mostraron una mayor oxidación de acetaldehído, mientras que las mitocondrias de hígado de ratas UCHB que consumieron 4.6 + 0.4 g/kg/día y UCHA y UCHB que consumieron forzosamente 7.2 + 0.5 y 7.3 + 0.6 g/etanol/kg/día, respectivamente, mostraron alteraciones de la cadena respiratoria reflejada en una disminución de la velocidad de oxidación de todos los sustratos estudiados a excepción del acetaldehído.

METABOLITOS LIQUENICOS Y SU ROL PROBABLE EN LA FOTOSINTEISIS (Lichen metabolites and their possible role in photosynthesis).

Quilhot, W., Hidalgo, M.E., Fernández, E.

Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

Concentraciones elevadas de metabolitos secundarios de líquenes se asocian, comunmente, con un crecimiento activo de los márgenes o de los ápices de las ramificaciones de los talos. Se ha informado que algunos compuestos liquénicos favorecen el proceso fotosintético absorbiendo y/o reflejando radiaciones de alta energía que son dañinas para las algas simbióticas.

En especies de líquenes fruticulosos se estudió los espectros UV y de fluorescencia de los metabolitos presentes, el sitio de acumulación y la variabilidad de las concentraciones en talos sectorizados en clases de edad.

Los máximos de emisión de los compuestos medulares, cuyas concentraciones son mayores en los tejidos más antiguos, corresponden a una zona espectral en que absorben las clorofilas. El ácido úsnico, de mayor abundancia en los tejidos jóvenes, se acumula en la corteza absorbiendo radiación de alta energía que no es reemitida por fluorescencia.

Estos resultados sugieren que los fluoróforos liquénicos incrementan la capacidad de las algas simbióticas para utilizar radiaciones de baja longitud de onda, lo que se expresa en una mayor eficiencia fotosintética.

Proyecto UV 10/86, DICT Universidad de Valparaíso.

CORRELACION ENTRE FATIGA Y ACTIVIDAD GLICOLITICA EN MUSCULO ESQUELETICO (Glycolytic activity and endurance in skeletal muscle). Ramírez BU, Howard M. Laboratorio de Neurofisiología, Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

En músculo esquelético se asocia resistencia a la fatiga con nivel de actividad oxidativa. Los músculos rápidos son más fatigables que los lentos y su metabolismo energético es predominantemente glicolítico. Por lo tanto estos músculos permiten estudiar el rol de la glicolisis en la resistencia a la fatiga.

La fatigabilidad aumenta transitoriamente en músculos rápidos de ratas tratadas crónicamente con 2,4-D (200 mg/kg). En este modelo medimos la actividad de enzimas indicadoras de glicogenolisis (Ph), glicolisis (LDH) y metabolismo oxidativo (MDH) en el tibial anterior, a distintos tiempos de tratamiento (1,7 y 13 días).

La resistencia a la fatiga disminuyó significativamente a las 24 h de tratamiento, recuperándose luego (7 ds) valores normales. La MDH se mantuvo constante en el período estudiado. La LDH disminuyó significativamente a las 24 h, pero alcanzó valores normales a los 7 ds. La Ph aumentó su actividad, alcanzando un valor máximo a los 7 ds.

En este modelo experimental la resistencia a la fatiga parece estar relacionada en forma importante con la actividad glicolítica, ya que ambas características se alteran con un curso temporal similar. En cambio no parece haber relación entre fatigabilidad y actividad oxidativa.

Trabajo financiado por DIUC.

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION PULSATIL ENDOVENOSA DE NALOXONA Y LHRH SOBRE LOS NIVELES PLASMATICOS DE GONADOTROPINAS EN OVEJAS RECIEN NACIDAS.** (Effect of pulsatile endovenous administration of naloxone and LHRH on the gonadotropins plasma levels in newborn sheep). Recabarmen, S.E., Benavente, C., Lobos, A., Cardenas, H. y Mora G. Laboratorio de Fisiología Animal, Dpto. Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción, Chile.

En borregos prepúberes hemos observado que la administración pulsátil de naloxona (Nal, 1 mg/kg) por medio de la arteria carótida aumenta los niveles plasmáticos de LH y facilita la respuesta condicionada a pulsos exógenos de LHRH. El presente experimento se formuló con el objeto de determinar si una situación similar ocurre en ovejas recién nacidas como punto de partida para estudiar la presencia de inhibición opioide en la secreción de gonadotropinas durante el desarrollo prepúbereal en ovejas. Para ello, se cateterizó la vena femoral de ovejas recién nacidas (edad = 12 a 22 ds, peso = 5 a 10 kg) para la administración de drogas y extracción de sangre. Las ovejas experimentales recibieron 3 pulsos de Nal (1 mg/kg) a intervalos de 60 min seguidas de 4 pulsos de LHRH (50 ng/kg) con el mismo intervalo. Las ovejas controles recibieron 3 pulsos de suero salino (SS) en reemplazo de NAL seguidos de 4 pulsos de LHRH. Se tomaron muestras de sangre cada 15 min desde una hora antes de SS o NAL y hasta una hora después del último pulso de LHRH, en cuyo plasma se midió LH y FSH por radioinmunoensayo. Todas las muestras fueron analizadas en 100 ul. Los niveles plasmáticos de LH son altamente fluctuantes en las ovejas controles, indicador de una alta frecuencia de pulsos. La administración de naloxona no cambia esta situación. Los niveles de FSH son más estables pero no son aumentados por la naloxona. Es probable que la ausencia de feedback por esteroides gonadales esté determinando la alta pulsatilidad de LH y la ausencia de respuesta a la naloxona. Esta situación a su vez, podría influir en la falta de respuesta condicionada a los pulsos exógenos de LHRH.

Financiado por proyecto 20.24.10. Direc. Invest. U. de Concepción.

**ESTUDIO DE DIFERENCIACION DE CELULAS ZIMOGENAS EN EL DESARROLLO POSTNATAL DE LA RATA.** (Differentiation of zymogen cells in the postnatal development of the rat). Reinicke, K.; Depto. Histología y Embriología, Fac.Cs. Biol.Rec.Nat., U. Concepción (Patrocinio: J. Garrido).

La utilización de técnicas morfológicas convencionales han limitado el avance del conocimiento de la diferenciación de células zimógenas en mucosa gástrica de rata recién nacida, dificultando además la distinción entre estas células y mucosas del cuello. Estudios recientes muestran una población de células con características muco-zimógenas (intermedias) a nivel del istmo de la glándula fúndica de rata adulta.

En el presente trabajo se estudió la diferenciación de células zimógenas en ratas recién nacidas con técnicas de inmunocitoquímica e histoquímica para microscopía de luz. La detección de células zimógenas se efectuó con antisuero específico revelado con inmunoperoxidasa, y las células mucosas del cuello con la técnica de hierro coloidal que evidencia GAGs ácidos.

En el fondo de las glándulas gástricas de ratas recién nacidas se muestran células con reactividad compartida para el antisuero y GAGs ácidos, localizándose la inmuno reactividad a nivel del núcleo y zona perinuclear, mientras que la reacción de Hale está polarizada hacia la región apical de la célula. Posteriormente hay incremento importante en el número de células inmunoreactivas como en la intensidad de la reacción, la que sigue asociada a la reacción de GAGs ácidos. En ratas de mayor desarrollo desaparece la población de células intermedias del fondo glandular, localizándose a nivel del istmo.

La aplicación conjunta de técnicas inmunocitoquímicas e histoquímicas ha permitido diferenciar células mucosas del cuello de zimógenas e intermedias en ratas recién nacidas, y presentar nuevas evidencias apoyando la idea que células zimógenas se originan de células muco-zimógenas presentes en la zona generativa de la glándula gástrica fúndica de la rata.

**RELACIONES SOCIALES EN CTENOMYS MAULINUS BRUNNEUS (RODENTIA, CTENOMYIDAE) EN CAUTIVIDAD.** (Social interactions in *Ctenomys maulinus brunneus* (Rodentia, Ctenomyidae) in captivity). Reise, D. y Gallardo, M. H. Instituto de Ecología y Evolución, Fac. de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Entre 1985 y 1986 se efectuaron varias excavaciones de los sistemas de túneles de *Ctenomys maulinus brunneus* en su localidad tipo, Río Colorado, Malleco. Los resultados de esos trabajos constituyeron la base para observaciones experimentales del comportamiento social en condiciones de laboratorio, de esta especie hipogea.

Se mantuvieron 13 especies en terrarios (40x60x20 cm) conectables por un túnel de vidrio de 1.20 m de longitud. Se observó comportamiento territorial, de explotación y alimentación en animales aislados y en interacciones de individuos del mismo y diferente sexo, con y sin parentesco. Las observaciones totalizan 120 horas.

La agresión juega un rol preponderante en las interacciones estudiadas. Se detectaron comportamientos auditivos, visuales, táctiles y de posición que permiten el control de la agresión.

Estos experimentos son preliminares a una segunda etapa que consistirá en poner a prueba, mediante planificación en terreno, las conductas observadas en cautiverio.

Trabajo financiado por el Proyecto RS-85-17 de la Dirección de Investigación de la Universidad Austral de Chile.

**EFFECTO DE LA HIPERACTIVIDAD SOBRE LAS FORMAS ASIMÉTRICAS DE LA ACETILCOLINESTERASA (AChE) Y CALIBRES AXONALES EN RATA.** (Effect of hyperactivity on asymmetric forms of acetylcholinesterase (AChE) and axonal calibers of the rat. Repetto, G. Laboratorio de Neurocitología, Fac. Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: J. Álvarez).

La porción efectora del sistema nervioso periférico comprende una célula nerviosa y una célula muscular o ganglionar. La hiperactividad de la vía simpática producida por reserpina determina un aumento de los calibres axonales. Esto sugiere que la neurona se describe mejor por un régimen estacionario, que por el concepto actual de inmovilidad anatómica. Las formas asimétricas de la AChE se localizan preferentemente en la sinapsis neuromuscular.

Se estudió el efecto de la hiperactividad sobre esta vía efectora, evaluando el nervio por sus calibres axonales y el músculo por la actividad de las formas asimétricas de la AChE.

Para ello se utilizó ratas adultas a las que se denegó el hemidiafragma derecho por resección del nervio frénico a nivel cervical. A distintos tiempos se sacrificaron los animales, obteniéndose los frénicos y diafragmas del lado sano sometidos a hiperactividad. El nervio fue fijado y procesado para observación a ME, y cuantificación de calibres axonales. Se disecaron las zonas de placa motora del diafragma, se extrajeron diferencialmente las formas asimétricas de la AChE y se las cuantificó por ensayo calorimétrico. Como controles se utilizaron ratas con ambos frénicos indemnes.

Se obtuvo un aumento de la actividad de las formas asimétricas de la AChE, que se observó ya a los 4 días post-resección, fue máximo a la semana y tendió a normalizarse a las 6 semanas. No hubo variación del calibre axonal a las 2 semanas.

Estos resultados muestran que la porción efectora del sistema nervioso periférico responde plásticamente a las exigencias a las que está sometido.

**IDENTIFICACION DE CISTEINA 128 COMO EL RESIDUO ESENCIAL EN LA INHIBICION DE FRUCTOSA-1,6-BISFOSFATASA POR FRUCTOSA-2,6-BISFOSFATO** (Identification of cysteine 128 as the essential residue in the inhibition of fructose-1,6-bisphosphatase by fructose-2,6-bisphosphate). Reyes, A., Ludwig, H. y Hubert, E. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

La fructosa-1,6-bisfosfatasa contiene un residuo de cisteína esencial para la inhibición de la enzima por fructosa-2,6-bisfosfato (Fru-2,6-P<sub>2</sub>) y para su activación por cationes monovalentes (K<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), lo cual se ha demostrado por modificación química de la enzima con N-etilmaleimida (Reyes et al. (1987) J. Biol. Chem. 262, 8451-8454). En este trabajo presentamos un estudio de la localización de este residuo en la estructura primaria de la proteína.

El tratamiento de la enzima (50 µM subunidad) con N-etilmaleimida (100 µM) en presencia de AMP (200 µM) a 30°C, pH 7,5 por 5 min, produce un derivado activo completamente insensible a la inhibición por Fru-2,6-P<sub>2</sub>. Se han usado estas condiciones para marcar la proteína con [<sup>14</sup>C]N-etilmaleimida. La carboximetilación del derivado y su posterior hidrólisis química (BrCN) y enzimática (tripsina) generó una mezcla de péptidos que fueron separados por filtración en Sephadex y por cromatografía líquida de alta presión (HPLC), o directamente por HPLC en acetato de amonio 25 mM, pH 6,0 / CH<sub>3</sub>CN. En algunos casos, una posterior purificación de los péptidos radiactivos se realizó por HPLC, en ácido trifluoroacético 0,1% o fosfato de potasio 4 mM, pH 6,0 / CH<sub>3</sub>CN.

Una comparación de sus composiciones aminoácidas permite demostrar que los péptidos radiactivos corresponden al mismo fragmento de la cadena polipeptídica. Nosotros concluimos que la cisteína esencial para la inhibición de la enzima por Fru-2,6-P<sub>2</sub> corresponde a la cisteína 128.

(Financiado por: DID-UACH, RS-85-26; FONDECYT, 179/87 y Fundación Andes, C-162).

**NIVELES DE CERULOPLASMINA Y ELEMENTOS TRAZA EN PACIENTES Y PORTADORAS DE DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE.** (Levels of Ceruloplasmine and trace elements in patients and carriers of DMD.) 1. Reyes, J., 2. Holmgren, J., 3. Barros T., 3. Colombo, M.

1. Universidad de Valparaíso. 2. Instituto de Rehabilitación Infantil de la Sociedad Pro-Ayuda del Niño Lisiado. 3. INTA. Universidad de Chile.

La Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) es la miopatía más frecuente, se hereda en forma recesiva ligada al sexo y aproximadamente un tercio de los casos son producto de una nueva mutación. La teoría más aceptada actualmente para explicar la patogénesis de la enfermedad sería una anomalía de la membrana que determinaría una alteración en el transporte de calcio. Este trastorno en la fibra muscular podría inducir variaciones en los niveles circulantes de Ceruloplasmina como principal enzima sérica antioxidante, y a la vez cambios en los niveles de Cu y Zn. El objetivo de este estudio es discutir el rol que tendrían algunos elementos traza en la fisiopatología de la enfermedad. Se analizaron 20 niños con DMD y 19 portadoras obligadas pertenecientes a 18 familias cuya primera consulta en el I.R.I. de Santiago, fue realizada en el período 1979-1987. El análisis de Ceruloplasmina y Cu en suero, muestra que tanto en pacientes como en portadoras los valores son más altos que los respectivos controles. Los niveles de Zn son más bajos tanto en pacientes como en portadoras en relación a sus controles. Estas diferencias son estadísticamente significativas para los pacientes (76.46 µg/dl) en relación a sus controles (89.25 µg/dl). Se discutirán los resultados obtenidos en el marco de la teoría actualmente más aceptada para explicar la fisiopatología de la enfermedad.

**VARIACIONES ESTACIONALES EN LA ESPERMATOCENESIS DE PUDU PUDA (MOLINA).** (Seasonal changes in spermatogenesis of Pudu puda). Reyes E., Guzmán R., Donoso J., Ramírez I. Depto. Biología Molecular, Fac. de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales; Depto. de Medicina Veterinaria, Fac. de Ciencias Agropecuarias y Forestales; Depto. de Medicina, Fac. de Medicina. Universidad de Concepción. \*(Patrocinio: G. Cea).

Pudu puda (molina) es un ciervo autóctono chileno. Se encuentra en las regiones precordilleranas desde el Maule hasta el sur de Chiloé, no más allá de los 1000 metros de altura.

En cautiverio, machos y hembras presentan un período sexual activo durante los meses de Marzo y Abril y un período de reposo sexual el resto del año. Las crías nacen en primavera después de un período de gestación de 203 días como promedio.

En la actualidad esta especie se encuentra en vías de extinción razón por la cual, sus estudios reproductivos están restringidos a individuos que por alguna causa deben ser sacrificados. Se analizaron cortes histológicos de gónadas de adulto en 3 períodos del año: Marzo-Abril, Septiembre-Octubre, Enero. Se observó diferencias notables desde el punto de vista histológico al comparar especialmente Marzo y Septiembre. Se hizo también, estudios hormonales para averiguar concentraciones de FSH, LH y TESTOSTERONA plasmática en los mismos períodos. Este estudio dio como resultado que LH y TESTOSTERONA se encuentran en altas concentraciones en los meses de Marzo y Abril y baja concentración en Septiembre; FSH no experimentó variaciones. Luego se ve que coincide la presencia de abundante cantidad de espermatozoides, con el período sexual activo y las altas concentraciones de LH y TESTOSTERONA. Por lo tanto, se concluye que Pudu puda macho sería estacional, al menos, en cautiverio.

Proyecto 20.30.09 CONAF, VIII REGION

Proyecto 20.31.16 DIC, UNIVERSIDAD DE CONCEPCION.

**BLOQUEADORES DE CANALES DE CA<sup>2+</sup> Y K<sup>+</sup> INHIBEN LA REACCIÓN ACROSOMICA DE ESPERMATOZOIDES DE HAMSTER "IN VITRO"** (Ca<sup>++</sup> and K<sup>+</sup> channel blockers inhibit hamster sperm acrosome reaction in vitro). Riffo, M. y Llanos, M. Depto. Cs. Med. Biol. y Básicas. Fac. Med. y División Cs. Básicas. INTA. Universidad de Chile.

Los procesos de capacitación y reacción acrosómica (RA) son imprescindibles para que ocurra fecundación en mamíferos: Estudios realizados "in vitro", han permitido demostrar que estos fenómenos son dependientes de Ca<sup>++</sup> y K<sup>+</sup>. Un estudio realizado en nuestro laboratorio demostró que el efecto de K<sup>+</sup> es posterior y dependiente del aumento de Ca<sup>++</sup> intraacrosómico. El objetivo de este trabajo es proporcionar mayores evidencias a cerca del mecanismo de entrada de Ca<sup>++</sup> y K<sup>+</sup> al interior del espermatozoide. Espermatozoides epididimarios de hamster fueron lavados y separados en una columna de perlas de vidrio e incubados por diferentes tiempos a 37° C en un medio que contiene bloqueadores de canales de Ca<sup>++</sup> (Co++, nifedipina, La<sup>+++</sup>, Diltiazem) o canales de K<sup>+</sup> (toxina de escorpión (Leirus quinquestratus), Cs+, Apamina, Ba<sup>++</sup>). Los resultados demuestran que la adición de tales bloqueadores inhiben la RA entre un 50-80%; con la excepción de apamina que no presentó efecto inhibitorio. La adición de lisofosfatidicolina a incubaciones realizadas en presencia de Co++ o Cs+, no acelera la RA "in vitro", en relación a los controles.

Se concluye que uno de los posibles mecanismos de entrada de Ca<sup>++</sup> y K<sup>+</sup> (necesarios para los eventos propios de la RA "in vitro") serían mediados por la apertura de algún canal de Ca<sup>++</sup> y posteriormente uno de K<sup>+</sup> dependiente de Ca<sup>++</sup>. Ya en el interior del acrosoma dichos iones contribuirían a los procesos moleculares que condicionan los eventos de membranas propios de la RA.

Financiado por proyecto FONDECYT # 510, 1987 y DIB. U. de Chile # B 2396-8723.

REGULACION DEL METABOLISMO HEPATICO DEL COLESTEROL: DISOCIACION FUNCIONAL ENTRE LA SECRECION BILIAR DE COLESTEROL Y LA SINTESIS DE SALES BILIARES (Regulation of hepatic cholesterol metabolism: functional dissociation between biliary cholesterol secretion and bile salt synthesis). Rigotti A., Ulloa N. y Nervi F. Depto. Gastroenterología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile.

La compartimentalización del colesterol intrahepático pudiera ser un factor regulador de su distribución hacia distintas vías de metabolización en el hígado. El colesterol biliar parece originarse de un subcompartimento hepático diferente y funcionalmente separado del pool de colesterol destinado a síntesis de sales biliares. En este trabajo se estudia la relación entre la secreción de colesterol biliar y la síntesis de sales biliares en ratas Wistar machos sometidas por 7 días a tratamientos que aumentan el débito de colesterol biliar (progesterona PG, 50 mg/kg SC) o la síntesis de sales biliares (colestipol COL, 3% P/P de dieta). La secreción de colesterol biliar se midió por fistula biliar aguda y la síntesis de sales biliares en el nadir de su secreción después de 14 h. de depleción del pool de sales biliares. No hubo cambios significativos en peso corporal ni hepático durante el período de tratamiento. Los resultados encontrados son los siguientes:

	Secreción Col. Biliar (nmol/h/g híg)	Síntesis S. Biliares (nmol/h/g híg)
CONTROL	83±10	232±13
PG	176±16*	264±17
COL	74±17	512±52*
PG + COL	164±18* (*p<.05)	465±52*

No existió correlación significativa entre la secreción de colesterol biliar y la síntesis de sales biliares. Estos resultados muestran que el efecto hipersecretor de colesterol biliar inducido por PG no se modificó a pesar del aumento del flujo de colesterol hacia síntesis de sales biliares, no existiendo interrelación funcional entre ambas vías metabólicas del colesterol hepático.

EFEECTO DE ALTAS CONCENTRACIONES DE POTASIO EN LA VELOCIDAD DE LA REACCION DEL ACROSOMA EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS. (Effect of high potassium concentration on the rate of acrosome reaction in human spermatozoa). Roblero, L., Guadarrama, A., Ortiz, M.E., Fernández, E., Zegers-H., F. Departamento de Obstetricia y Ginecología, Clínica Las Condes y Laboratorio Endocrinología, Facultad Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Epermatozoides humanos con motilidad progresiva, seleccionados por el método de swim up, se incubaron por 24 horas en medio de cultivo conteniendo ya sea 4.7, 15 ó 25 mM de potasio (K). Alícuotas de cada una de las condiciones de cultivo se obtuvieron a las 0, 1, 5, 10 y 24 horas de incubación, para determinar motilidad progresiva, porcentaje de espermatozoides muertos y reacción de acrosoma (RA). Los resultados mostraron que:

- 1) la concentración de K no afectó el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva;
- 2) el porcentaje de espermatozoides muertos fue significativamente menor en el medio de cultivo conteniendo 25 mM K;
- 3) se encontró un porcentaje significativamente mayor de espermatozoides con RA en medio de cultivo con 25 mM K. El tiempo requerido para alcanzar un 20% de RA fue de 2 horas en 25 mM K comparado con 10.9 horas en 4.7 mM K.

PATRON DE DESARROLLO LARVARIO EN ESPECIES DE SIPHONARIIDAE DEL ESTRECHO DE MAGALLANES. (Larval development pattern in two Siphonariidae species from the Strait of Magellan). Ríos, C., C. Noziglio y L. Guzmán. Area de Biología, Instituto de la Patagonia, Universidad de Magallanes.

Como regla general, se ha sugerido la existencia de un incremento en la frecuencia de especies con desarrollo larvario no pelágico conforme aumenta la latitud. Especies de la Familia Siphonariidae (Mollusca:Pulmonato) estudiadas hasta ahora comprenden poblaciones distribuidas desde áreas tropicales hasta áreas subantárticas y no presentan un patrón consistente en relación a la regla señalada.

Observaciones de laboratorio permitieron describir el desarrollo larvario de dos especies de Siphonariidae que ocurren simultáneamente en el intermareal de una playa rocosa semiprotectida del Estrecho de Magallanes. Siphonario lessoni desova una masa ovígera pelágica con miles de huevos de pequeño tamaño, a partir de lo cual eclosionan larvas véliger planctotróficas, mientras que Kerguelenella lateralis desova una masa bentónica con pocos huevos relativamente grandes de la que eclosionan juveniles. El estado de véliger en S. lessoni aparece entre 6-9 días después del desove y la eclosión de larvas véligeras típicamente planctotróficas comienza entre 11-19 días posterior a este proceso. En una misma masa de K. lateralis se encuentran embriones en distintos estadios de desarrollo, por lo que la eclosión de juveniles no sería simultánea sino que ocurriendo en forma paulatina hasta completar el total de la oviposición.

En general, el patrón de desarrollo de ambas especies no presentan variaciones al ser comparados con el de poblaciones ubicadas en otras latitudes, sin embargo hay variaciones importantes en el tamaño de los juveniles al eclosionar.

Los patrones observados presentan alternativas importantes al modelo de desarrollo propuesto por Mileikovski.

SUPRESION ENTRE DOS TONOS SIMULTANEOS: OTRO FENOMENO NOLINEAL DE ORIGEN MECANICO EN LA COCLEA DE LA CHINCHILLA. (Two-tone suppression: another nonlinear phenomenon of mechanical origin in the chinchilla cochlea). Robles, L., Ryggro, M.A. y Rich, N.C. Depto. de Fisiología y Biofísica, Fac. de Medicina, Univ. de Chile y Dept. of Otolaryngology, Univ. of Minnesota, Minneapolis, MN, E.E.U.U.

Mediciones en animales con mínimo daño quirúrgico han demostrado recientemente que la respuesta mecánica de la membrana basilar (MB) en la cóclea es fuertemente no lineal, y que presenta una sintonización tan aguda como la observada en fibras del nervio coclear. Sin embargo la relación entre la no linealidad mecánica de la MB y otros fenómenos no lineales registrados en fibras del nervio coclear no es clara. Hemos estudiado la supresión mecánica entre dos tonos simultáneos (reducción de la respuesta a un tono debido a la presencia de un segundo tono) en un punto a 3,5 mm de la base en la cóclea de la chinchilla, usando la técnica de Mössbauer. Luego de obtener la respuesta de frecuencia para el punto en estudio de la MB, se fijaron un "tono de prueba" a una frecuencia cercana a la de mayor sensibilidad de la curva de sintonización (frecuencia característica) y un "tono supresor" a una frecuencia más alta. Se midieron las amplitudes y fases de las respuestas al tono de prueba cuando éste se presentaba solo y pareado con un tono supresor. Consistentemente se encontró supresión del tono de prueba para varias frecuencias del tono supresor (10 a 12 kHz) y un amplio rango de intensidades de ambos tonos (tono de prueba 20-80 dB SPL; supresor 40-70 dB SPL). El efecto de supresión medido como el corrimiento horizontal de la curva de entrada-salida para el tono de prueba fue de hasta 28 dB. Este valor es comparable al obtenido para supresión en fibras del nervio coclear, sugiriendo que este fenómeno no lineal se origina fundamentalmente en la respuesta mecánica de la cóclea. (Financiado por FONDECYT, Chile y NINCDS y NSF, E.E.U.U.)

AGREGACION DE TIPO FILAMENTOSA DE LA FRUCTOSA-1,6-BISFOSFATASA, INDUCIDA POR EL ION POTASIO. (Filament-like aggregation of Fructose-1,6-bisphosphatase, induced by potassium ion). Rodríguez, P., Siebe, J.C. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.

La Fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa) de riñón de cerdo es una enzima tetramérica clave en la regulación de la gluconeogénesis. Uno de sus mecanismos de regulación es la activación por  $K^+$  y  $NH_4^+$ . Hemos postulado que la activación por cationes monovalentes se debería a una pérdida de inhibición de la enzima por exceso de sustrato, posiblemente mediada por un cambio conformacional inducido por el  $K^+$  (Hubert et al. Arch. Biochem. Biophys. 250, 336-344, 1986).

En este trabajo se estudió el efecto del  $K^+$  sobre la conformación de la enzima, mediante espectroscopia diferencial ultravioleta. A concentraciones sobre y bajo 10 mM, el catión produce dos tipos de cambios conformacionales, lo que está de acuerdo con los estudios cinéticos previos. El segundo cambio conformacional descrito (sobre 10 mM) se correlacionó con la formación de microagregados filamentosos los cuales fueron visualizados por microscopía electrónica, mediante tinción negativa. Iguales concentraciones de  $Na^+$  (150 mM) no producen el mismo efecto. Una tinción específica para FBPasa, mediante el uso de anticuerpos anti-FBPasa y proteína A de *Staphylococcus sp.* marcada con oro coloidal, demostraron que los agregados formados están constituidos por FBPasa.

Estos resultados apuntan a que el mecanismo de activación de la enzima por cationes monovalentes podría deberse a cambios conformacionales que facilitan la agregación. La polimerización de una enzima citosólica mediada por  $K^+$ , abre expectativas interesantes en el estudio de la organización de estas macromoléculas en el ambiente intracelular. Financiado por RS-85-26 DID-UACH y FONDECYT 179/87.

EFFECTO DE GONADOTROFINAS SOBRE LOS TERMINALES NORADRENÉRGICOS DEL OVARIO DE GATO Y RATA\* (Effects of gonadotropins on the noradrenergic terminals of the cat and rat ovary). Rojo, D., Ferruz, J., Conde, E., y Lara, H. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas.

La existencia de inervación noradrenérgica en el ovario, ha planteado la posibilidad de que estos nervios podrían participar en la regulación de la función ovárica interactuando con las gonadotropinas. En este trabajo se estudiaron los cambios en los terminales noradrenérgicos del ovario ya sea por la administración de gonadotropina coriónica (hCG) a gatos en estro o en el ciclo estral de la rata.

Después de ocurrida la ovulación, el contenido de noradrenalina (NA) del ovario de gato disminuyó en un 70%. Este cambio se correlacionó con una disminución en el contenido de NA y ATP en las vesículas de almacenamiento de NA y en la capacidad de incorporación de  $^3H$ -NA de estas vesículas. Estos resultados que sugieren un aumento de la liberación de NA inducida por hormonas, fue confirmado al estudiar la liberación inducida de  $^3H$ -NA recién captada por el ovario. La presencia de hCG "in vitro" (50ng/ml) es capaz de modificar la liberación inducida de  $^3H$ -NA desde cortes de ovarios de gatos en estro. Este efecto también se manifestó en ovarios de ratas en distintas etapas del ciclo estral.

El conjunto de estos resultados da fuertes evidencias de que las gonadotropinas podrían actuar directamente sobre los terminales noradrenérgicos del ovario. La modificación de los contenidos de NA obtenidos después de la ovulación puede ser a través de los procesos de almacenamiento y liberación de NA, siendo ésta una de las formas como se regularía la disponibilidad de la NA para actuar sobre el tejido ovárico.

\* Financiado por DIB B2750-8712 y DIUC 75/86.

ORIGEN DE LA INERVACION SIMPATICA RESPONSABLE DEL RITMO CIRCADIANO DE CATECOLAMINAS INTRATIROIDALES. (Origin of the sympathetic innervation and the circadian rhythm of intrathyroidal catecholamines). Romeo, H., Solovey, C., Vacas, M., Rosenstein, R., Sarontini, M., y Cardinali, D. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UBA, y Centro de Investigaciones Endocrinológicas (CEDIE), Buenos Aires, Argentina. (Patrocinio: E. Vivaldi).

En el territorio simpático del ganglio cervical superior (GCS) existen proyecciones de significado endocrino como aquellas correspondientes a la glándula tiroidea. Por dosajes radioenzimáticos determina mos la presencia de un ritmo circadiano de catecolaminas intratiroidales, donde la norepinefrina (NE) exhibe un máximo alrededor de las 2300 h y un mínimo a las 1100 h. Nuestro objetivo consistió en determinar el origen y vías de proyección de las neuronas simpáticas responsables de tal ritmo. Tanto la gangliectomía cervical superior unilateral (Gx) como la descentralización ganglionar unilateral (Dc) hacen desaparecer la captación neuronal específica de  $^3H$ -NE y provocan una caída del contenido de NE al 6% del lóbulo tiroideo contralateral intacto. La Dc no afecta el contenido de catecolaminas intratiroidales, mientras que la Gx causa una disminución significativa de aquél al 26%. Las neuronas que inervan la glándula pineal se asientan en la porción rostral del GCS y se proyectan por el nervio carotídeo interno (NCI). La sección del nervio carotídeo externo (NCE) elimina, del mismo modo que la Gx y la Dc, la captación neuronal del lóbulo ipsilateral a la operación, sin afectar al contralateral ni modificar la captación pineal. Los resultados obtenidos indican que los cuerpos neuronales que proveen inervación simpática a la glándula tiroidea están alojados en los ganglios cervicales medio y/o inferior, desde donde proyectan sus axones a través del GCS y del NCE.

ABUNDANCIA Y DIETA DE LAS AVES DEL BOSQUE DE OLIVILLO DE CHILOE. (Abundance and diet of Chiloe forest birds). Rozzi, R. y Correa, A. Lab. Sist. y Ecol. Vegetal., Fac. Ciencias, U. de Chile.

Observaciones preliminares de las aves del bosque templado de Chiloé, sugieren que muchas especies, incluso algunas descritas como insectívoras, incluyen frutos en su dieta, y podrían tener un importante rol en la dispersión de semillas. Con el fin de investigar esta relación se estudió la composición de especies, uso de habitat, dieta y características morfológicas de las aves del bosque de 12 islas que se encuentran al sur de la Isla Grande de Chiloé (43°25'S; 74°20'W). Se realizaron transectos por el margen e interior del bosque y se registró la frecuencia de observación, el microhábitat y actividad de las aves. A algunas aves capturadas se les analizó el contenido estomacal. De las 26 especies observadas, las más abundantes fueron *S. galeritos*, *A. spinicauda*, *Ph. patagonicus*, *T. falklandii* y *E. albiceps*. Sus frecuencias relativas variaron entre las islas, y la similitud de la composición de especies fue mayor entre las islas geográficamente más cercanas (64-78%). Además, las especies de la familia Rhinocryptidae sólo se encontraron en las islas de mayor tamaño. En los estómagos de la mayoría de las especies, incluso las "insectívoras", se encontraron semillas o restos de frutos carnosos.

La mayor similitud en la composición de aves de islas más cercanas sugiere que las franjas de mar podrían actuar como barreras para el movimiento de algunas especies, (e.g., Rhinocryptidae). Sin embargo, otras vuelan entre islas, lo que se refleja en las similitudes relativamente altas. Este hecho y el hallazgo de semillas en los estómagos, enfatiza la importancia que las aves tendrían para la dispersión de semillas, y explicaría el comportamiento continental documentado para la flora dispersada por aves en este grupo de islas, que contrasta con el comportamiento insular observado en las plantas con otros mecanismos de dispersión. (Financiado por: FONDECYT 1467 y DIB N2210-8735)

**SOBRE UN PEZ FOSIL DE QUEUCO, CORDILLERA DEL BIO-BIO.** (A fossil fish of Queuco, Bio-Bio Range). Rubilar, A., Moyano, H. y Abad, E. Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales y Departamento de Geociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de Concepción. (Patrocinio: J.C. Ortiz).

Se presenta la descripción de un pez fósil recolectado en una secuencia continental de edad Eoceno-Mioceno Medio de la Cordillera de los Andes, zona del alto Bio-Bio. Dicha secuencia pertenece al miembro Malla-Malla de la Formación Cura-Mallín.

El ejemplar fósil se caracteriza por presentar las siguientes características: 1) Opercular con espinas, 2) Aleta dorsal dividida; primera dorsal formada por 9 espinas y segunda dorsal formada por 11 rayos blandos, 3) Aleta anal con tres espinas, 4) Tres huesos predorsales, 5) Aleta caudal con tres epurales y cinco hipurales, 6) Escamas ctenoides en el tronco.

Dichas características son compartidas tanto por los géneros *Percichthys* como *Percilia*. Se discute la afinidad más probable con el género *Percichthys* en base a las características antes mencionadas y a otros restos óseos encontrados.

**ANÁLISIS DE LA ADECUACIÓN BIOLÓGICA EN LÍNEAS SELECCIONADAS PARA ALTA Y BAJA AGREGACIÓN DE HUEVOS EN DROSOPHILA MELANOGASTER.** (Fitness analysis in selected lines for high and low gregarious oviposition in *Drosophila melanogaster*). Ruiz, D.G., del Solar, E., Uribe, E. y Rocha, A. Instituto de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

No todos los individuos de una población contribuyen con la misma proporción de descendientes a la próxima generación. La explicación de este fenómeno se ha buscado en una multiplicidad de factores denominados genéricamente componentes de la adecuación biológica.

Se conoce además que el proceso de selección artificial produce efectos correlacionados que a menudo afectan estos componentes. Por estas razones, consideramos necesario estudiar los efectos correlacionados producidos en dos líneas seleccionadas durante 132 generaciones para alta y baja agregación de huevos en *D. melanogaster*.

Se estimaron en las líneas seleccionadas y población control los siguientes factores: período de latencia y duración de la cópula en minutos; fecundidad, velocidad de desarrollo y longevidad en días, fertilidad y proporción de sexo; realizándose 50 repeticiones para cada uno.

Los resultados indican que existe una correlación positiva entre fecundidad y longevidad como factor común en las líneas y el control. La línea de alta difiere de la población control en la fertilidad y velocidad de desarrollo. La línea de baja en cambio, difiere en la fecundidad.

Con estos parámetros es posible distinguir las líneas entre sí y cada una de éstas con la población control.

Trabajo financiado parcialmente por los proyectos S-86-12, D.I.C., U.A.Ch. y # 185 FONDECYT.

**TEMPERATURA CORPORAL Y ACTIVIDAD ELÉCTRICA DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE *Marmosa elegans*.** (Body temperature and activity of the central nervous system of *Marmosa elegans*). Ruiz, G., Roncaliolo, M., Rocco, S. y Carrera, P. Depto. Biología, Universidad Metropolitana de Cs. de la Educación y Depto. de Fisiología, Universidad de Valparaíso.

*Marmosa elegans* es un marsupial cuya temperatura corporal ( $T_b$ ) es muy variable (desde  $T_b$  menor que 10°C hasta casi 40°C). Dos hipótesis opuestas pueden explicar este hecho: La amplitud de este rango de  $T_b$  puede estar asociada a un sistema controlado de regulación por integración de los sistemas de producción y pérdida de calor, o ser el producto de una regulación deficiente que también conduce a  $T_b$  variable, pero en este caso poco predecible.

Como una primera aproximación experimental a estas alternativas nos propusimos obtener registros de la actividad cortical y de  $T_b$  en animales hipotérmicos, normotérmicos e hipertérmicos.

Con este propósito utilizamos marcosas implantadas a nivel cortical con 4 electrodos de plata abarcando ambos hemisferios cerebrales. Los electroencefalogramas (EEG) fueron registrados en un polígrafo Gilson y simultáneamente se midió  $T_b$  (colónica) con termistores.

Los resultados indican que la frecuencia de las ondas del EEG (20 a 22 Hz) es independiente de  $T_b$  entre 28 y 35°C. Bajo 28°C y por sobre 35°C la frecuencia disminuye. En hipotermia espontánea y a  $T_b$  de 10°C la frecuencia es de 10 Hz y valores similares o menores se obtienen en hipotermia a  $T_b$  de 39°C.

Aunque desconocemos la actividad subcortical, si consideramos que la frecuencia del EEG es proporcional a  $T_b$  (10 a 28°C); que entre 28 y 35°C se extiende aproximadamente la zona de termoneutralidad y finalmente que por sobre 35°C una disminución de la actividad cortical implica probablemente disminuir la producción de calor, podemos inferir que *marmosa* posee un sistema bien controlado de regulación de  $T_b$  a pesar de ser considerado un animal de termorregulación primitiva.

Financiado parcialmente por proyecto DIB (N 2594-8714).

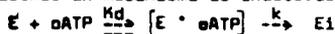
**MARCACION POR AFINIDAD DE LA FOSFOENOLPIRUVATO CARBOXIQUINASA (PEPCK) DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE.** (Affinity labeling of phosphoenolpyruvate carboxylase from *Saccharomyces cerevisiae*). Saavedra, C.P. Depto. de Química, Fac. de Ciencia, USACH. (Patrocinio: E. Cerdemil).

La PEPCK es una enzima reguladora de la gluconeogénesis y cataliza la reacción:



en que para la enzima de levaduras NTP-ATP. Prosiguiendo con los estudios del sitio activo de esta enzima, en este trabajo informamos acerca de la reacción con dialdehído de ATP (oATP).

La enzima es inactivada por oATP con cinética de pseudo-primer orden con respecto al modificador, siguiendo un mecanismo de inactivación del tipo:



en que  $K_d = 71 \mu\text{M}$  en Hapes 50 mM pH 7,5 a 30°C. Los sustratos protegen efectivamente de la inactivación, el oATP un inhibidor competitivo con respecto al ADP. Se encontró que la enzima parcialmente inactivada no presenta variación en las constantes aparentes de Michaelis para PEP y ADP, sugiriendo que la enzima parcialmente inactivada está formada por una mezcla de moléculas activas y de otras totalmente inactivas. Al estudiar el efecto de la  $\text{H}^+$  sobre la reacción de inactivación, se encontró un  $\text{pK}_a$ . La estequiometría de marcación empleando [ $^{14}\text{C}$ ] oATP se determinó en 1,75 moles de reactivo/mol de subunidad de enzima.

Los resultados sugieren que el oATP estaría modificando un residuo de lisina del sitio activo de la enzima. La etapa siguiente de este estudio consistirá en el aislamiento de un péptido marcado para su posterior secuenciación.

Financiado por DICYT-USACH.

EFFECTO DEL ESQUELETO PROTEICO SOBRE LA FLUIDEZ DE LA MATRIZ LIPIDICA EN DOMINIOS PROXIMOS A PROTEINAS EN LA MEMBRANA DEL ERITROCITO HUMANO. (Effect of the protein skeleton on lipid matrix fluidity of domains next to proteins in human erythrocyte membranes).

Sáez, L., Vera, M., Celedón, G., Depto. Fisiología Normal y Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso. (Patrocinio: C. Behn).

En la membrana del eritrocito humano con esqueleto proteico defectuoso está aumentada la fluidez de la monocapa interna. Se estudia la difusión lateral del pireno en membranas depletadas de espectrina. La depleción de espectrina comprobada por electroforesis (Fairbanks), se obtiene por diálisis de membranas aisladas contra 0,3 mM fosfato pH 8,0 0,1 mM EDTA, y 0,1 mM PMSF (18 hrs., 4°C). Las membranas depletadas se separan por centrifugación (80.000g, 60 min) y se resellan en pCa 3,2 (30 min., 37°C). Membranas (0,25 mg de proteínas/mL) depletadas y no depletadas se incuban con  $3,4 \times 10^{-5}$  M pireno (3 hrs., 25°C) y se lavan 3 veces para separar microagregados del indicador. La fluidez de la matriz lipídica se evalúa por la relación de intensidades de fluorescencia excímero/monómero de pireno (I'/I) excitado directamente (335nm) o por transferencia de energía del triptofano (285nm). En membranas no depletadas los valores fueron  $0,33 \pm 0,06$  (n=8) y  $0,55 \pm 0,09$  (n=8) al excitar a 335 y 285 nm respectivamente. En membranas depletadas los valores correspondientes fueron  $0,34 \pm 0,06$  (n=8) y  $0,65 \pm 0,13$  (n=8). El aumento de la diferencia entre I'/I<sub>335</sub> versus I'/I<sub>285</sub> en membranas depletadas indica que el esqueleto proteico disminuye la fluidez de la matriz lipídica en regiones próximas a proteínas. DICT (U.V.).

NEUROFILAMENTOS Y CALIBRE AXONAL (Neurofilaments and axonal caliber). Saitua, F. Laboratorio de Neurocitología, Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: Koenig, C.).

A cada calibre axonal le corresponde una densidad microtubular característica, la que es común para distintos vertebrados. En el presente trabajo estudiamos si una correlación semejante ocurre con los neurofilamentos, el otro componente mayor del citoesqueleto axonal.

Axones mielínicos de gato, rata y chirigue (*Sicalis luteola*) se fotografiaron con el microscopio electrónico y se evaluó la densidad de neurofilamentos.

En axones de 3 µm de diámetro, los valores fueron 44.5, 60.8 y 111.5 neurofilamentos por µm<sup>2</sup> de axoplasma en rata, gato y chirigue respectivamente. En axones de 10 µm de gato, la densidad fue de 77.8 NF/µm<sup>2</sup>. En el gato, los valores de las raíces fueron semejantes a los valores de axones periféricos para ambos diámetros axonales.

En relación a los microtúbulos contrasta la gran variación de la densidad de los neurofilamentos de una especie a otra para axones de igual calibre. Parece improbable que los neurofilamentos sean los elementos del citoesqueleto que determinen el calibre axonal.

INCENDIOS FORESTALES EN LA V REGION (Fire forest in the V Region). Sáiz, P. + y R. Villaseñor ++. Sección Ecología, U. Católica de Valpo. (+); Fac. Ciencias, U. Playa Ancha de Cs. Ed. (++)

Los incendios forestales afectan a los ecosistemas en forma inmediata (reducción de biomasa vegetal, muerte animal) y mediata (favorecimiento de erosión, modificación y retardo de procesos sucesionales), comprometiendo seriamente su recuperabilidad.

La V Región es una de las más afectadas: 12347 háas quemadas, promedio 1980-86 (94% vegetación nativa) y 1091 incendios en promedio por temporada.

En 1984 iniciamos un estudio postincendio en el P.N. La Campana, Ocoa (Fondecyt 1066/84, DGI-UCV) tendiente a evaluar el impacto en la vegetación, faunas epigea e hipogea y contenido de agua y pH del suelo.

El diseño general incluye dos parcelas de 70 x 30 m, adyacentes, una quemada y otra no (control).

Ahora, entregamos resultados parciales de tres años de seguimiento de algunos aspectos vegetacionales.

Objetivos de esta parte son: evaluación del impacto del fuego, determinación de la capacidad de rebrote de árboles y arbustos, estimación del tiempo de recuperación, conocimiento del proceso sucesional postincendio.

Se entrega información sobre: a) incidencia de incendios y áreas quemadas en Chile y V Región; b) recuperación en volumen de litre y espínlio; c) recuperación en altura de litre, llen, peumo, quilla y coliguay y d) composición vegetacional pionera de sucesión secundaria postincendio.

CLONAMIENTO DE GENES DE RNA RIBOSOMAL DE *I. ferrooxidans*. (Cloning of rRNA genes of *I. ferrooxidans*) O. Salazar y O. Orellana, Depto de Bioquímica, Fac. de Medicina, U. de Chile.

*Thiobacillus ferrooxidans* es una bacteria autotrófica, quimiolitotrófica y acidofílica que participa en la biolixiviación de cobre. Sobre la expresión génica en esta bacteria, se conoce del clonamiento y replicación de plasmidios en *E. coli* y la secuenciación de los genes de la nitrogenasa.

Se conoce con detalle la organización, estructura y mecanismos involucrados en la regulación de la expresión de los genes de RNA ribosomal (rRNA) de bacterias heterotróficas. Hemos iniciado el estudio los genes de rRNA de *I. ferrooxidans* con el objeto de conocer las secuencias que regulan su expresión. En la pesquisa de los genes de rRNA se utilizó una genoteca del DNA de *I. ferrooxidans* formada digerido con Sau3A I y ligado al plasmidio pBR322. Se usaron como sonda mezclas de fragmentos de los rRNA 16 y 23s de *I. ferrooxidans*. Se aislaron 25 clones positivos y se analizaron los plasmidios de cuatro de los clones purificados. Estos plasmidios poseían insertos de 7,5; 4,5; 4,0 y 1,5 kb respectivamente. Se contruyó un mapa de restricción de los fragmentos y se localizaron los subfragmentos que hibridan con la sonda de rRNA de *I. ferrooxidans* por la técnica de Southern. Se localizaron las secuencias que codifican los rRNA 16 y/o 23 s por hibridación con los rRNA respectivos de *E. coli*. La presencia del gen del rRNA 5s se estudió por hibridación con el gen correspondiente del operón rrnB de *E. coli*. El número de copias de los genes se determinó por hibridación de los genes clonados con el DNA cromosomal bacteriano. PNUD-FONDECYT-DIB.

**CLONAMIENTO PARCIAL DE UN OPERON RIBOSOMAL DE *Thiobacillus ferrooxidans* A-4.** (Partial cloning of a ribosomal operon from *Thiobacillus ferrooxidans* A-4). Sanchez, M. y Cáceres, B. Laboratorio de Biotecnología, Grupo de DNA Recombinante y Biotecnología, P. Universidad Católica, Casilla 114-D, Santiago. (Patrocinante: A. Venegas).

Para la construcción y diseño de vectores genéticos es necesario disponer de un promotor fuerte que se exprese activamente. Entre los genes que se expresan a alto nivel están los genes ribosomales y de tRNA.

Para aislar estos genes se recurrió a utilizar tRNA total de *T. ferrooxidans* A-4 como sonda detectora. Debido a que en estos operones bacterianos existen genes de tRNA, su uso como sondas permitiría la detección de ambos tipos de genes. Aquí se informa el aislamiento y caracterización preliminar de un operon ribosomal de *T. ferrooxidans*.

De una genoteca de *T. ferrooxidans* en pUC19, se aislaron varios clones. Entre estos se escogió el pT192 ya que dio una hibridación muy fuerte, lo que puede ser indicativo de un alto nivel de expresión.

En el inserto de 4,5kb se detectaron dos zonas con fuerte hibridación. Se subclonaron algunos fragmentos de restricción en el fago M13mp19. Se secuenció por el método de Sanger. La secuencia reveló alta homología con el comienzo del gen ribosomal 23 S de *Bacillus subtilis* y en menor grado con *E. coli*. Esto permitió identificar el clon y orientarlo respecto a su dirección de transcripción.

Financiado por FNUD/DNUDI proyecto CHIB5/002 y por una beca ANAGRA-CHILE a H.S.

**SINTESIS DE FOSFATIDILINOSITOL EN MEMBRANAS AISLADAS DE MUSCULO ESQUELETICO DE RANA.** (Phosphatidylinositol synthesis in membranes isolated from frog skeletal muscle.) Sanchez, X. e Hidalgo, C. Dpto. Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, U. de Chile y Centro de Estudios Científicos de Santiago.

Se ha propuesto al inositol trifosfato resultante de la hidrólisis enzimática de fosfatidil-inositol 4,5-bisfosfato (PIP2) como el responsable del acoplamiento excitación-contracción en músculo esquelético. Estudios realizados en membranas aisladas de túbulos transversales de músculo esquelético de rana muestran formación de PIP2 por fosforilaciones sucesivas de fosfatidilinositol (PI) endógeno. Membranas de retículo sarcoplásmico en cambio no forman PIP2.

En este trabajo se incuban membranas de túbulos transversales con [3H] myo-inositol formándose [3H]-PI principalmente. La incorporación es dependiente de Mg+2 y Mn+2 en concentraciones milimolares y es activada por ATP. El requerimiento absoluto de citidindifosfato diglicérido demuestra que ocurre síntesis de novo de PI y no una reacción de intercambio entre PI endógeno y [3H]myo-inositol. Membranas de retículo sarcoplásmico incubadas en las mismas condiciones forman PI con mucho mayor actividad que las membranas de túbulos transversales.

Estos resultados demuestran la presencia de CDP-diglicérido myo-inositol-3-fosfatidil transferasa en ambos sistemas. Las membranas aisladas de túbulo transversal por lo tanto, tienen la capacidad de sintetizar PI y de fosforilarlo a PIP2.

Financiado por: NIH GM 35981, MDA, FONDECYT 1340, DIB 2149.

**FUNCION DE LA CAPSIDE INTERNA EN LA TRANSCRIPCION "IN VITRO" DE ROTAVIRUS HUMANO.** (Rol of the inner protein capsid on "in vitro" human rotavirus transcription). Sandino, A.\* y Spencer, E. Unidad de Virología, INTA, Universidad de Chile.

El rotavirus humano está formado de 2 cubiertas proteicas y el core viral que contiene el RNA genómico. El virus con una cubierta de proteínas transcribe "in vitro" los 11 genes virales. La cubierta interna constituida por una proteína de 42 KD denominada VP6, es indispensable para que ocurra la transcripción. Esta posee propiedades antigénicas, que definen los subgrupos virales. Si esta cubierta proteica se remueve de la partícula viral mediante un tratamiento con CaCl2, se pierde la capacidad de transcribir. Sin embargo, la actividad transcripcional se recupera retirando el CaCl2, mediante diálisis o con agentes quelantes, con lo cual también se reconstituye la partícula viral de cubierta simple.

Bajo las condiciones estudiadas, la proteína VP6 no tiene funciones enzimáticas asociadas a la transcripción como RNA polimerasa, nucleotidasa o ATPasa. Aparentemente su función es interaccionar con una proteína del core o el RNA viral introduciendo cambios en él, que permiten que ocurra la transcripción.

Estudios de recuperación de la actividad transcripcional con variantes antigénicas del virus, han sugerido que la función de la proteína VP6 en la transcripción es independiente de sus propiedades antigénicas. Con el uso de anticuerpos monoclonales se está determinando cual es el sector de esta proteína comprometido en la transcripción.

Por otro lado, estudios realizados con anticuerpos policlonales sugieren que VP6 se uniría al RNA viral más que a una proteína del core. Financiado por proyecto # B-2175-8734 del DIB, Universidad de Chile

\*Becado Fundación Andes.

**DEGRADACION DEL BOSQUE DE ROBLE-LAUREL-LINGUE EN LA NOVENA REGION DE CHILE.** (Degradation of the Roble-Laurel-Lingue forest of the ninth region of Chile). San Martín, J., Hauenstein, E. y Contreras, D. Sedes Talca y Temuco de la Universidad Católica de Chile.

La depresión intermedia de la novena región estuvo cubierta en el pasado, con bosque de Roble-Laurel-Lingue (*Nothofago-Perseetum*). En la actualidad, restos de él, conviven con matorrales secundarios y praderas antropogénicas. Se estudian las relaciones entre estas comunidades vegetales.

Se levantaron 46 censos de vegetación en rodales de bosque, en matorrales de maqui (macal) y de zarzamora (mural) y en praderas, comparando el número y el origen fitogeográfico de las especies y el espectro biológico de las asociaciones. También se calculó la similitud florística entre ellas.

El número de especies desciende desde el bosque al macal y de allí, a la pradera y al mural. En el mismo sentido descienden las especies autóctonas y aumentan las alóctonas. Los fanerófitos descienden hasta la pradera y suben en el mural; los hemcriptófitos tienen un comportamiento opuesto. Existe una alta similitud florística del bosque con el macal y una más baja con la pradera. En el proceso de degradación, el macal reemplaza al bosque, pero cuando en lugar del bosque se establecen praderas, al degradarse éstas, son invadidas por un mural. Sólo del primer matorral puede separarse una regeneración del bosque original.

(Proyecto interno Nº 7 de la Sede Talca de la Universidad Católica de Chile)

CONDUCTAS CIRCADIANAS NORMALES DE SUEÑO/VIGILIA DE UNA POBLACION DE ESTUDIANTES DE MEDICINA.

(Normal Circadian Sleep/Wakefulness Behaviors in a population of Medical Students)

Santibáñez, L., Fernández-Solís, A., Sánchez, M., Noya, L., Romero, H. Depto. de Fisiología y Biofísica. Fac. Medicina. Univ. de Chile.

En diversas especies animales, se ha demostrado que las conductas de Sueño (S) son comandadas por Osciladores Endógenos. Se han descrito varios modelos humanos normales de organización circadiana de Sueño (S). Ellos condicionan la eficiencia y distribución horaria de rendimientos somáticos, motores, intelectuales y emocionales de la Vigilia (V), que podrían obedecer, a su vez, a osciladores endógenos específicos. Hay escasos datos sobre su dinámica y ocurrencia espontánea en poblaciones normales. En una población de 462 estudiantes de Medicina (1° a 5° año), 267 varones (57%) y 195 mujeres (42%), se hizo una encuesta de 56 índices de hábitos de S/V para días laborales (DL) y no laborales (DnL). Algunos de los datos más relevantes son: Los X de edad por curso fueron de 18 años (1er año) a 23 años (5° año). El X de la población dormía 7 hr los DL y 10 hr los DnL. 1° y 2° años, duermen en X 6 hr por noche los DL, y 10 hrs los DnL. La hora X de inicio de S de toda la población fue 24 hr, pero para 2° y 5° año, fue 1 AM. En los DnL en todos los cursos, los hombres tienen 2 a 3 hr más de S que las mujeres y ellas muestran una curva con 2 picos: el primero conserva su valor habitual de S, y el segundo es similar a la curva de los varones. La hora de despertar X en DL fue a las 6 AM y los DnL a las 10 AM. El 93,2% de la población acusa espontáneamente por lo menos un período de somnolencia diurna no deseada entre 12 y 15 hr. Otro horario preferencial fue entre 6 a 9 hr. El 84,2% de los alumnos desearía dormir entre 1 a 3 hr más por noche, llegando a 92% en 2° año. Los períodos de mayor rendimiento subjetivo para trabajo, comprensión, aprendizaje y memoria se ubicaron entre: las 18 y 21hr (47%) y entre las 21 y 24 hr (42%). Otro período elegido, (44%), fue entre 9 a 12 hr. Por los datos obtenidos, existiría una privación parcial de S en los DL que sería compensada los fines de semana y motivaría la alta proporción de somnolencia no deseada. Llana la atención la elección espontánea de los períodos de mayores rendimientos. Se plantea el problema de exigencias en el horario curricular. Los datos encontrados apoyarían la existencia de probables marcapasos ultradianos para ciertos tipos de memoria.

PROYECTO 511 FONDECYT.

UTILIZACION DE LA VEGETACION NATIVA DE COMUNIDADES SEMI-ARIDAS DE CHILE POR ABEJAS MELIFERAS (*Apis mellifera*) (Utilization of native vegetation by honey bees (*Apis mellifera*)). Schuck, M., y Montenegro, G. Laboratorio de Botánica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D Santiago.

Productos vegetales como el polen constituyen fuente importante de proteínas y carbohidratos para la nutrición de las abejas siendo especialmente importante como fuente energética el nectar. Se ha demostrado que las abejas son selectivas en la utilización de las especies vegetales, de ahí la necesidad de conocer la capacidad real de ciertas áreas de sustentar una flora melífera. El objetivo del trabajo fue determinar las especies vegetales de las comunidades de la zona mediterránea semi-árida utilizadas por las abejas melíferas como fuente de alimento a través del reconocimiento específico de los granos de polen que recolectan utilizando la técnica de microscopía de Barrido.

Se determinó una relación entre fenología de especies presentes en la comunidad (período de floración) y polen recolectado por las abejas, estableciéndose un calendario polínico de utilización temporal de especies vegetales. A través de la determinación de fluctuaciones periódicas del peso entre colmenas se observó un aumento significativo en la época de mayor floración, aumento que es independiente del alimento canalizado directamente vía apicultor.

Las preferencias específicas observadas por las abejas se discuten en relación a características morfoanatómicas de las flores y a producción de polen por las anteras.

Proyecto FONDECYT 0692-87, UNESCO-MAB 6, DIUC 89/87.

RADIATIVIDAD NATURAL:  $^{238}\text{U}$  EN ROCAS VOLCANICAS DE LOS ANDES DEL SUR. (Natural radioactivity:  $^{238}\text{U}$  in South Andean volcanic rocks). Schuller, P., Kohn, W., y López, L.<sup>1</sup> Instituto de Física, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, <sup>2</sup>Niedersächsisches Institut für Radioökologie, Hannover, República Federal de Alemania y <sup>3</sup>Departamento de Geología y Geofísica, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile. (Patrocinio: F. Ojeda).

El  $^{238}\text{U}$  es un radioisótopo primordial, emisor  $\alpha$  de vida media  $4.47 \times 10^9$  a. Aproximadamente el 50% de la dosis equivalente efectiva del hombre, debida a fuentes naturales de radiación, se atribuye a núclidos radiactivos de la serie del  $^{238}\text{U}$ . Presencia abundante de radioisótopos de esta serie ha sido reportada en flujos volcánicos.

Como contribución al estudio del incremento de la radiactividad natural a través de erupciones volcánicas, se estudió la abundancia de  $^{238}\text{U}$  en 24 flujos de lava de los Andes del Sur, procedentes de conos chilenos ubicados entre los volcanes San José ( $33^{\circ}47'S$ ) y Chaitén ( $42^{\circ}52'S$ ). Previa extracción química del U, se midió la actividad de  $^{238}\text{U}$  por espectrometría  $\alpha$  con detectores de barrera superficial. Además se determinó la abundancia de  $\text{SiO}_2$  y  $\text{K}_2\text{O}$ .

La actividad específica de  $^{238}\text{U}$ , medida en las rocas volcánicas analizadas, varió entre 5.0 y  $42.2 \text{ Bq kg}^{-1}$ , siendo similar a la estimada para rocas de los Andes Centrales. Se observa un incremento de la actividad específica de  $^{238}\text{U}$  al aumentar la abundancia de  $\text{SiO}_2$  y  $\text{K}_2\text{O}$  de las lavas analizadas. En regresiones lineales entre la concentración de  $^{238}\text{U}$  y estas variables, se obtuvieron coeficientes de correlación  $r=0.85$  y  $r=0.89$  respectivamente. Consecuentemente se espera en flujos riolíticos una mayor abundancia de  $^{238}\text{U}$  y de sus productos de decaimiento.

(Financiado por DID-UACH S-86-24, NIR, DIB-UCH E-1703).

CARACTERIZACION Y METABOLIZACION POR MICROORGANISMOS DE UN POLIMERO NATURAL RICO EN LIGNINA. (Characterization and bacterial metabolism of a natural lignin-rich polymer). Seelenfreund, D., y Vicuña, R. Lab. de Bioquímica, Facultad Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago.

Al incubar *Streptomyces viridosporus* T7A, una bacteria filamentosa, sobre lignocelulosa de paja de trigo, se acumula un polímero rico en lignina que es soluble en agua y precipita en medio ácido.

Hemos iniciado estudios químicos para caracterizar mejor este producto, analizando su contenido de hidratos de carbono, nitrógeno, etc. Mediante métodos fisicoquímicos (filtración en Sephadex G-50 y HPLC) se determinó su distribución de peso molecular. Del mismo modo, se ha caracterizado la formación de este sustrato variando el tiempo de incubación con *S. viridosporus* T7A.

El polímero formado no es metabolizado en forma significativa por el propio *S. viridosporus*. Nuestra búsqueda se dirigió por lo tanto a encontrar los microorganismos que los metabolizan normalmente. Se aislaron diversas cepas bacterianas de la naturaleza capaces de usar este sustrato como única fuente de carbono. Se estudió además la capacidad de *Phanerochaete chrysosporium*, un hongo ligninolítico por excelencia, de modificar este polímero soluble. En todos estos ensayos se recuperó el sustrato del medio de incubación y se estudiaron las posibles modificaciones introducidas por la acción de los distintos microorganismos, utilizando nuevamente las técnicas químicas y fisicoquímicas mencionadas.

Financiado por proyectos FONDECYT, DIUC y Celulosa Araucó y Constitución.

MELATONINA INHIBE RITMO CIRCADIANO DE PROLACTINA EN EL FETO DE OVEJA. ¿SENSIBILIDAD AL FOTOPERIODO COMIENZA IN UTERO? (Melatonin inhibits prolactin circadian rhythm in the sheep fetus. Does sensitivity to photoperiod start in utero? Serón-Ferrás, M., Vergara, M., Parraguez, V., Llanos, A.)\*. Laboratorio Endocrinología, Facultad Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. \* Laboratorio de Fisiología y Fisiopatología del Desarrollo, Dept. Preclínicas Ciencias Médicas Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los niveles plasmáticos de prolactina (Prl) en la oveja adulta muestran variación circadiana sensible al fotoperiodo que es mediada por melatonina. Fetos y recién nacidos (RN) de oveja presentan una variación circadiana de Prl, siendo los RN sensibles al fotoperiodo. Este estudio explorará si la Prl fetal se modifica al aumentar la melatonina. Para ello medimos por RIA la concentración plasmática de Prl cada 2 h por 24 h en 6 fetos controles (127-137 ds gestación) y en 4 fetos (135-140 ds gestación) cuyas madres habían recibido un implante subcutáneo de melatonina en silastic (4.5 x 1cm, aprox. 1.5 g) 1 semana antes del experimento. La variación circadiana de Prl en los controles se ajusta a la función:

$$[Prl (ng/ml)] = 351.7 + 85.07 \cos [15 (t - 19.24)] \quad p = 0.005.$$

En contraste, los fetos cuyas madres fueron tratadas con melatonina no presentan una variación circadiana de Prl. Además, el tratamiento con melatonina disminuyó la cantidad total de prolactina en 24 h (calculada como área bajo la curva) de  $7992 \pm 1461$  (controles) a  $2740 \pm 178$  ng x 24 h/ml,  $p < 0.05$  (X ± ES).

Estos resultados muestran que la secreción de Prl en feto es sensible a melatonina; y sugieren que la capacidad de reconocer el fotoperiodo podría ya estar presente en el feto de oveja al final de la gestación.

Financiado por grants DIUC 56/86, Rockefeller 86020 y DIB 2183-8733.

PERSISTENCIA DE CONOCIMIENTOS DE UNA ASIGNATURA DE FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA VETERINARIA. COHORTE 1982-1986. (The knowledge retained the one course of Pharmacology and Toxicology Veterinary. Cohort 1982 - 1986). Silva, P., Ahumada, F. y Henríquez, O. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

Se estudió la variación en la persistencia del conocimiento a través del tiempo, haciendo un análisis de las respuestas a las preguntas de una prueba realizada a egresados en el año 1986 y esas mismas preguntas realizadas durante el año 1982 en que cursaron la asignatura. Las preguntas fueron separadas en tres series de 10 preguntas cada una de acuerdo a sus objetivos taxonómicos educacionales: Conocimiento-Comprensión (Serie A), Aplicación-Análisis (Serie B), y Síntesis-Emisión de Juicios (Serie C). Los contenidos de la asignatura se clasificaron en 10 grupos de materias.

Los porcentajes de persistencia del conocimiento fueron 76,5%; 83,0% y 91,3% para las series A, B y C respectivamente. Las materias con los porcentajes de persistencia más altos fueron Utero, Anti-inflamatorios y Aparato digestivo. Las notas obtenidas en la prueba de 1986, fueron en promedio más bajas que las logradas 4 años antes.

Se concluye que las variaciones porcentuales de la persistencia del conocimiento evidencian la diferencia en la comprensión del conocimiento a través del tiempo, variación que disminuye a medida que aumenta el grado de complejidad taxonómica y aumenta en las materias que han sido reforzadas posteriormente.

PRODUCCION DE ENZIMAS LIGNINOLITICAS POR HONGOS NATIVOS CHILENOS (III). (Production of lignolytic enzymes by Chilean fungi II). Silva, M., Landa, O. Laboratorio de Biotecnología, INTA, Universidad de Chile. (Patrocinio: M. Perreta).

Chile posee crecientes plantaciones de pino insigne (1.2 millones de hectáreas) cuya explotación comercial genera importantes volúmenes de aserrín (300.000 ton/año) de las cuales se utiliza solo un 10% como fuente de energía.

La madera está constituida básicamente por celulosa, hemicelulosa y lignina las cuales suman más del 90% del peso seco. La lignina es un heteropolímero aromático, tridimensional y aséptico cuya recalcitrancia dificulta tanto su aprovechamiento como el de los polisacáridos asociados a ella (celulosa y hemicelulosa).

Hoy en día se sabe que la biodegradación de la lignina es realizada casi exclusivamente por hongos basidiomicetes llamados pudrición blanca siendo uno de los más estudiados *Phanerochaete chrysosporium* del cual en 1983 se aisló la primera enzima con actividad ligninolítica.

El objetivo de este trabajo es seleccionar hongos locales con alta capacidad ligninolítica, producir y caracterizar sus enzimas y estudiar algunas aplicaciones potenciales de estas.

Se aislaron del sur de Chile diferentes hongos ligninolíticos de troncos en descomposición. Se estudiaron distintos parámetros de cultivo (nitrógeno, carbono, oxígeno y agitación) sobre la producción de ligninasa, lacasa y peroxidasa.

Cepas seleccionadas fueron utilizadas para estudiar la cinética de lignólisis utilizando una lignina extraída de madera de pino ultraoxidada.

Las enzimas producidas fueron parcialmente purificadas y se evaluó su fracción detoxificadora sobre madera de pino explotada para su óptima transformación a productos microbianos diversos. Con este fin se caracterizaron parcialmente mediante TLC, cromatografía en permeación de geles (Sephadex LH-20, LH-60, etc.), los compuestos tóxicos originados por la explosión con vapor de aserrín de pino antes y después del tratamiento enzimático.

Financiado por: Proyecto FONDECYT No.0812. Obtención de azúcares fermentables a partir de coqueta agotada de remolacha y aserrín de pino mediante pretratamientos físico-químicos y procesos biológicos.

EFFECTO DE UNA FRACCIÓN OBTENIDA DE *Solanum crispum* R.50 BRE PARAMETROS ELECTRICOS DE PIEL ABDOMINAL AISLADA DE *Pleurodema thaul*. (Effect of an fraction obtained from *Solanum crispum* R. on electric parameters of the isolated abdominal skin from *Pleurodema thaul*). Sobrevía, L. y Alarcón, J. Departamento Ciencias Básicas. Instituto Profesional de Chillán. (Patrocinio: S. Recabarren).

Se ha demostrado que el epitelio de *P. thaul* transporta  $Na^+$  debido fundamentalmente a una bomba  $Na^+K^+$ , lo que genera una corriente de sodio asociada a una diferencia de potencial (DP) entre dos compartimentos. Esto determina propiedades funcionales del epitelio fácilmente identificables por el modelo del circuito eléctrico equivalente (Cee) de Ussing y Zerahn y el test de amilorida de Isaacson.

Gran cantidad de sustancias naturales y artificiales generan marcadas modificaciones en diversos parámetros fisiológicos. Se informó anteriormente que una fracción acuosa aislada de *S. crispum* R. ( $E_3$ ) posee propiedades hipotensoras y que dicha fracción, positiva para las reacciones de aminas y flavonoides, al ser administrada en el lado mucosal del epitelio de *P. thaul* genera modificaciones significativas ( $p < 0.001$ ) en la DP y corriente de corto circuito (CCC) y para todas las estimaciones numéricas de los componentes del Cee. La DP, CCC, conductancia para sodio ( $G_{Na}$ ) y potencial de sodio ( $E_{Na}$ ) disminuyen considerablemente; la resistencia pasiva al sodio ( $R_{Na}$ ) y de shunt ( $R_{sh}$ ) aumentan. El reemplazo de cloruro de sodio por sulfato no generó grandes diferencias en los parámetros, no así el reemplazo de sodio por colina. Disminuyen además el consumo de oxígeno (75%) y el flujo mucosa-serosa de  $Na^{22}$  (40%). En síntesis se plantea una acción a nivel del mecanismo de transporte pasivo como también cierta acción inhibitoria sobre el sistema que promueve el transporte activo de sodio.

Res. Ex. N° 434/85.

PROTEINA LIGADA AL GENOMA DEL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREÁTICA INFECCIOSA (The genome-linked protein of infectious pancreatic necrosis virus). Soler M. y Dobos P. Laboratorio de Bioquímica, Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso y Department of Microbiology, College of Biological Sciences, University of Guelph, Guelph, Ontario N1G2W1, Canada (Patrocinio: G. Farías).

El virus de la necrosis pancreática infecciosa (virus IPN) es el prototipo de una nueva familia de virus, los Birnaviridae que incluye virus que infectan peces, moluscos, *Drosophila* y aves. El genoma del virus IPN consta de dos segmentos de RNA de cadena doble (A=2,5x10<sup>6</sup> dalton y B=2,3x10<sup>6</sup> dalton) que codifican cuatro proteínas: una de tamaño grande (VP<sub>1</sub>, 90K), una de tamaño medio (VP<sub>2</sub>, 58-62K) y dos de tamaño pequeño (VP<sub>3</sub>, 29-31K y NS, 27-29K). Todas ellas son diferentes entre sí de acuerdo a los resultados de mapeo peptídico. Asociada al genoma viral se ha descrito una proteína denominada proteína terminal o VPG. Estas proteínas son polipéptidos covalentemente unidos al ácido nucleico. Ellas han sido descritas en virus que infectan animales, vegetales y bacterias y su función sería la de servir de iniciadores en la replicación del ácido nucleico. En este trabajo se describe la purificación del complejo RNA-VPG utilizando centrifugación en gradiente de sacarosa seguida de centrifugación en una gradiente discontinua de isotiocianato de guanidina sobre un colchón de CsCl. La yodación *in vitro* del complejo RNA-VPG con el reactivo Bolton y Hunter, seguida de electroforesis en geles de poliacrilamida, reveló radiactividad asociada al RNA viral. La digestión de este complejo con una mezcla de ribonucleasas liberaba una proteína de un peso molecular aproximado de 5000, la probable VPG. El análisis de esta VPG por digestión parcial con proteinasa V8 de *Staphylococcus aureus*, reveló que esta proteína no era digerida por esta enzima.

INTERACCIONES INTRASEXUALES Y METABOLISMO ENERGÉTICO EN MACHOS *Octodon degus*. (Intrasexual interactions and energetic metabolism in males *Octodon degus*). Solís, R. y Rosenmann, R. Depto. Cs. Ecológicas, Fac. Ciencias, Universidad de Chile.

La época reproductiva constituye una etapa crucial en el ciclo vital de los animales. Gran interés ha suscitado el estudio de las modificaciones en las interacciones intrasexuales evidenciadas por los machos durante el periodo reproductivo, por las consecuencias eco-evolutivas que ellas tendrían.

En este sentido, la conducta, comúnmente agresiva, manifestada por los machos durante este periodo, ha sido interpretada por la consecuencia de un tipo de interacción competitiva por el "recurso hembra".

En este trabajo se intentó caracterizar cuantitativamente esta modificación conductual estacional, a través de un parámetro operacional que denominamos "afinidad". Además, se realizaron experimentos tendientes a caracterizar la participación de la hembra en la expresión conductual de los machos, mediante la cuantificación de su metabolismo energético en machos mantenidos con y sin hembra y en los periodos de actividad e inactividad reproductiva. Los resultados revelan que la modificación en las interacciones intrasexuales de los machos corresponden a la manifestación de un cambio fisiológico estacional global, más que a la consecuencia de algún tipo de interacción competitiva, dado que la presencia de la hembra no parece ser el factor determinante de la modificación estacional de la conducta de los machos. Además, en función de los resultados de metabolismo, proponemos una acción moduladora (no determinante) de este cambio fisiológico estacional por parte de la hembra, al constituirse en una perturbación significativa para los machos durante el periodo reproductivo. Durante este periodo éstos manifiestan una disminución en la magnitud de sus valores de metabolismo, en presencia de la hembra.

Este trabajo fue parcialmente financiado por los proyectos DIB N-2594 de la Universidad de Chile y FONDECYT 0065.

CONSTRUCCION DE UN NUEVO VECTOR DE EXPRESION PARA SINTETIZAR TUBULINA EN *E. COLI*. (Construction of a new expression vector for tubulin synthesis in *E. coli*). Soto, C. y Lagos, R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Se construyó un vector de expresión (pRL110) derivado del fasmidio (fago-plasmidio) P4, que consta del promotor híbrido *tac* (inducible por IPTG) seguido de la secuencia SD necesaria para la unión al ribosoma. Distal a esta unidad, el vector tiene un sitio único *Pst*I para insertar el gen que se desea expresar, y una región de terminadores de la transcripción (*rrnB*) que estabiliza el sistema huésped-vector. El vector posee además un gen de resistencia a ampicilina y parte del genoma del fago P4 necesario para el desarrollo lítico. P4 es un fago defectivo que no posee genes morfogenéticos y desarrolla ciclo lítico sólo en presencia de su helper P2, de modo que la lisis está controlada por la adición de P2. En ausencia de P2, P4 se replica como un plasmidio. La mutante P4 *sid1*, utilizada en la construcción del vector, permite la encapsidación del genoma del vector con un inserto entre 1 y 20 kilobases.

Se utilizó este vector en la expresión de los genes de alfa y beta tubulina, insertando los cDNAs respectivos en el sitio *Pst*I. La separación entre la secuencia SD y el codón AUG fue de 70 a 80 pares de bases. La expresión de los genes de tubulina se detectó por un ensayo inmunológico en los halos de lisis, formados a partir de colonias que llevan P4. La expresión de tubulina bajo estas condiciones fue incierta, pues se trabajó en el límite de resolución del método inmunológico. Para maximizar la expresión de tubulina, se acortó a 10-20 pares de bases la distancia entre el codón AUG y la secuencia SD, mediante digestión controlada con la nucleasa *Bal* 31.

Financiado con los proyectos Fondecyt 5058/86; 1462/86 y DIB B-2576/8713.

EFFECTOS DE LA HERBIVORIA EN EL FITOPLANCTON DE MESOCOSMOS EXPERIMENTALES. (Effects of herbivory on the phytoplankton of experimental mesocosms). Soto, D. San Diego State University (USA) y Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Con el objeto de estudiar las interacciones entre zooplanctones herbívoros y carnívoros y su efecto subsecuente en el fitoplancton, se manipularon las densidades de tres grupos de microcrustáceos; copepodos, calanoides (herbívoros) ciclopoideos (omnívoros o marcadamente carnívoros) y cladoceros (herbívoros). Diferentes combinaciones de especies fueron asignadas a 25 tanques de 400 l en un experimento que duró 8 meses.

Inicialmente los copepodos calanoides produjeron un aumento de todas las algas para luego causar una disminución significativa ( $p < 0.5$ ) de aquellas consideradas comestibles. Al mismo tiempo se produjo un fuerte aumento del alga resistente *Oocystis* la cual finalmente provocó la disminución brusca de los herbívoros. La presencia de predadores ciclopoideos y principalmente la de cladoceros (*Daphnia pulex*) evitaron o retardaron esta manifestación biológica de eutroficación. *Daphnia* particularmente fue capaz de causar una disminución de 2 a 3 órdenes de magnitud en todas las algas incluyendo aquellas no comestibles para otras especies. La gran abundancia de algas no comestibles en presencia de los calanoides pudo proteger de los herbívoros a aquellas comestibles facilitándose así la coexistencia de especies potencialmente competidoras. La interacción entre algas y herbívoros es compleja atiendo difícil separar causas y efectos. Los herbívoros modifican la sucesión de algas y los procesos de eutroficación.

EFFECTO INHIBIDOR DE CAPTAN 80 SOBRE LA ABSORCIÓN INTESTINAL EN RATÓN. (Inhibitory effect of captan 80 on intestinal absorption in mouse). Soto, J., Iturza, S. y Soto, R. Depto. Cs. Ecológicas, Fac. Ciencias, Universidad de Chile.

El Captan 80 es un fungicida organoclorado usado en agricultura, que ha demostrado tener acción mutagénica, teratogénica y carcinogénica, en organismos expuestos a su acción. El presente trabajo se realizó con el objetivo de estudiar el efecto de Captan 80 sobre el transporte de azúcares (D-Glucosa) y aminoácidos (L-Tirosina) en el epitelio intestinal de ratón, *in vitro*.

Sacos de intestino evertidos (yeyuno) de ratón (Balb c/A snell y CFI), sacrificados por dislocación cervical, se incubaron a 37 °C en un baño con solución Krebs-Henseleit, que contenía D-Glucosa (5 mM) y L-Tirosina (2 mM). El transporte de estos dos compuestos se evaluó, determinando el aumento de concentración de ellos en el interior del saco, al cabo de 60 min. El Captan 80 se disolvió en etanol absoluto y luego se diluyó en solución Krebs-Henseleit para obtener concentraciones finales de  $10^{-5}$  -  $10^{-6}$  M en la preparación. El sistema se mantuvo oxigenado con una mezcla gaseosa de 95% oxígeno-5% anhídrido carbónico, durante todo el período experimental.

Los resultados demuestran que Captan 80, en las concentraciones usadas inhibe el transporte de glucosa y tirosina, aumentando la inhibición con el aumento de concentración del fungicida. Además el efecto inhibidor es mayor en los ratones de cepa CFI que en los de la cepa híbrida Balb c/A snell.

Financiado por Proyecto DIB N 2447-8613 de la Universidad de Chile.

HETEROCRONIA NATURAL Y EXPERIMENTAL EN ROEDORES: EFECTOS EPIGENÉTICOS ATÁVICOS. (Natural and experimental heterochrony in rodents: atavistic epigenetic effects). Spatorno, A. Departamento de Biología Celular y Genética, F. de Medicina, U. de Chile.

Abrothrix longipilis (Cricetidae) vive en ambientes de selección K y evolucionó con simplificación del báculo penial y glándulas accesorias, mayor tamaño corporal, rostral y longevidad. La hipótesis neoténica de heterocronía hormonal sostiene que éstas son perturbaciones ontogénicas producidas por retraso en la descarga de testosterona neonatal; predice aumento alométrico de capacidad craneana, y crucialmente, la regresión a caracteres primitivos (tipo A. olivaceus o A. andinus) por inyección temprana de la hormona.

Las trayectorias ontogénicas de 15 especies (17 ejemplares) en dos análisis multivariados (ACP) de 18 medidas craneanas y corporales fueron concordantes al remover el tamaño corporal en el primer componente, excepto los juveniles longipilis, que ocuparon posiciones anómalas. El análisis alométrico bivariable (log/log) de 3 especies indicó que los adultos longipilis presentaron capacidades craneanas (método de relleno) mayores que olivaceus o andinus al mismo peso y tamaño corporal, pero sus juveniles menores. Esto indica disociación de tamaño/forma, retardo de caracteres somáticos y neotenia.

La inyección temprana de testosterona a los 4 días de edad en longipilis, aunque parece no haber modificado el báculo a los 31 días, produjo acortamiento del rostro, mayor capacidad craneana, y alopecia corporal no rostral con respecto al hermano control de la misma camada. La inducción de varios caracteres atávicos por una señal hormonal clave evidencia una notoria discordancia entre la magnitud de los cambios genéticos y morfológicos, aunque efectos pleiotrópicos de un gen regulador producirían los mismos efectos. Proyecto FONDECYT 1412 y DIB B-2689-8713, U. de Chile.

COMPARACION DE MECANISMOS BIOTICOS DE POLINIZACION EN DOS AREAS CORDILLERANAS A LOS 50°S, PATAGONIA, CHILE. (A comparison of biotic pollination in two mountain transect at the 50°S, Patagonia, Chile). Squeo, F.A. Fac. de Ciencias, U. de La Serena. (Patrocinio: M.T.K.Arroyo).

A latitudes australes, el aumento de la inestabilidad climática en el gradiente Este-Oeste, expresada como variación de temperatura, HR y velocidad del viento, modificaría las condiciones en que pueden coexistir las plantas y sus polinizadores. Por lo tanto, se esperaría disminución en las tasas de visita de insectos antofílicos y espectros de polinización desplazados hacia miofilia y psicofilia en las floras de las cordilleras ubicadas hacia el Este, en comparación con las del Oeste, más cercanas a la Capa de Hielo Patagónico Sur.

Durante el período de floración, se efectuó un muestreo de actividad de polinizadores en los distintos pisos altitudinales de vegetación en dos localidades cordilleranas: Co. Sta. Lucía, 550-1300 msm; y Co. Diente, 450-1200 msm, distantes 59 y 13.5 kms de la capa de hielo, respectivamente.

Considerando el total de las especies visitadas (Co. Sta. Lucía = 73 y Co. Diente = 42 spp), se destaca la mayor importancia de las spp psicofílicas y miofilílicas (>80%) en ambos espectros de polinización. Sin embargo, en Co. Diente la proporción de spp psicofílicas es casi el doble. En esta misma localidad, la proporción de spp melitofílicas corresponde a poco más que 1/4 (<5%) de las que se encuentran en Co. Sta. Lucía. En ambas localidades, las tasas de visita son significativamente menores en el piso Subnival, relativo al piso Subandino de vegetación. En comparación con Co. Sta. Lucía, Co. Diente presenta tasas de visita significativamente menores en los dos pisos altitudinales extremos (Subandino y Subnival).

DIB N1755-8745, U. de Chile y FONDECYT N° 1389 (MTKA)

ORGANOS SENSORIALES TUGEMENTARIOS EN POLYPLACOPHORA: LOS ESTETOS DE TONICIA ELEGANS. (Tugumentary sensory organs in Polyplacophora: the aesthetes of Tonicia elegans). Stuardo, J. y Valdovinos, C. Depto. Oceanografía. Universidad de Concepción, Casilla 2407. Concepción.

Los estetos son órganos sensoriales de la concha en "quitones", cuya función, por algunas diferencias estructurales entre grupos, han favorecido diversas interpretaciones: receptores de luz, receptores táctiles, órganos quimiosensoriales y aún la secreción de material orgánico.

Usando un microscopio electrónico de barrido AUTOSCAN U-1, SIEMEN ETEC, se estudió el tegumento de la placa céfalica y placas intermedias no descalcificadas de Tonicia elegans de la costa de Concepción.

Corroborando la descripción detallada de estas estructuras en T. chilensis por L. Plate (1897) se distinguen 3 tipos interconectados: macroestetos con ocelos lentes extrapigmentarios; microestetos con capa quitinosa apical y ramificaciones subsidiarias de los mismos.

Los lentes de los ocelos son de forma oval y de superficie lisa, sin perforaciones. Las capas apicales y subsidiarias presentan una superficie rugosa, al igual que el periostraco, sin perforaciones. La disposición de los ocelos y microestetos es regular, en series radiales a partir del mureo.

Terminaciones nerviosas inervan los estetos a través de un sistema de conductos verticales perpendiculares al tegumentum que se comunican con una red horizontal que se extiende sobre el articulamentum.

La ausencia de perforaciones en los estetos, la histología conocida de estos órganos en Tonicia y el comportamiento fotofobo de la especie, favorece la interpretación como tipos de receptores luminosos.

EFFECTOS ESTRUCTURALES DE ANTIBIOTICOS EN BICAPAS FOSFOLIPIDICAS (Structural damage of antibiotics upon lipid bilayers). Suwalsky, M., Tapia, J.\*, Espinoza, M.A.\*, Garrido, C., Hernández, P., Vollrath, V. y Neira, F. Departamento de Química, Universidad de Concepción, y \*Facultad de Ciencias, Universidad de Talca.

El Laboratorio de Rayos X de la Universidad de Concepción ha estado estudiando los efectos que producen compuestos químicos de interés biológico sobre bicapas fosfolipídicas con el propósito de interpretar el daño que ellos pudiesen provocar en membranas celulares. En esta oportunidad se informará sobre los resultados con la incorporación de tres antibióticos de amplio uso terapéutico, Clortetraciclina.HCl, Bencilpenicilina y Cloramfenicol, sobre bicapas constituidas por dimiristoillectina (DMFC) y dimiristoilfosfatidiletanolamina. Ambos fosfolípidos se ubican respectivamente en el lado externo e interno de las membranas de glóbulos rojos humanos.

Para este estudio se incorporó, separadamente, cada antibiótico en distintas proporciones molares y con diferentes contenidos de agua en ambos tipos de bicapas fosfolipídicas. Estas muestras se analizaron por difracción de rayos X. Los resultados obtenidos indican que mientras la clortetraciclina.HCl y bencilpenicilina modifican significativamente la estructura de las bicapas fosfolipídicas de DMFC, el cloramfenicol no produciría daños estructurales en ninguna de las bicapas estudiadas.

Esta investigación cuenta con el apoyo de la Dirección de Investigación de la Universidad de Concepción (Proyecto 20.13.60).

PARAMETROS DE DIFERENCIACION DE UNA LINEA CELULAR CARDIACA. (Differentiated parameter in a cardiac cell line). Tascón, S. y Araya, N. Depto. de Biología, P.Universidad Católica de Temuco y Depto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, U. de Chile. (Patrocinio: R. Caviedes).

Continuando el análisis de propiedades histotípicas en la línea celular cardíaca (Arch. Soc. Biol. Med. Exp. 17:R-164, 1984 y Arch. Soc. Biol. Med. Exp. 18:R-125, 1985), se efectuaron con y sin el agregado de moduladores externos (DMSO, Milrinona y medio definido sin suero) estudios histoquímicos de enzimas fosforilasa y creatinofosfoquinasa e inmunocitoquímicos (deamina, citokeratina y vimentina) en células crecidas sobre cubreobjetos con y sin matriz extracelular. Se estudia fusión celular determinando número de células multinucleadas en idénticas condiciones experimentales.

El flujo máximo de  $^{45}\text{Ca}$  al minuto en células controles de esta línea celular fue de 5 nmoles

$^{45}\text{Ca}$ /mg proteína. Este flujo es inhibido en un 50% por Nifedipina (1  $\mu\text{M}$ ) y LaCl<sub>3</sub> (1 mM), y es activado por Bay-K8644 (0.1  $\mu\text{M}$ ).

Financiamiento: Proyecto DIB 2124-8733.

PARTICIPACION DE NEURONAS SEROTONINERGICAS EN EL DESARROLLO DE TOLERANCIA AL ETANOL EN RATAS UCHA y UCHB. (Rol of serotonergic neurons on tolerance to ethanol in UChA and UChB rats). Tampier, L. y Urrutia, C. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

En un trabajo anterior habíamos observado que ratas de los linajes UChA (bajo consumidor de etanol) y UChB (alto consumidor de etanol) se diferenciaban en su capacidad para desarrollar tolerancia al etanol al ser sometidas a ingesta forzada de una solución de etanol al 10%, tolerancia que se desarrollaba en ratas UChA y no en ratas UChB. Por otra parte Kalant y cols. han postulado que la serotonina tendría un rol en el desarrollo de tolerancia al etanol.

En el presente trabajo se estudió en primer lugar el desarrollo de tolerancia al etanol en ambos linajes usando otras formas de administración, como ser inyección i.p. previa de una dosis o con la administración aguda vía oral de etanol en distintas dosis, así como la influencia del tratamiento con p-clorofenilalanina (p-CPA) (inhibidor de la síntesis de serotonina) sobre este desarrollo de tolerancia.

Los resultados muestran que las ratas UChA desarrollan tolerancia al etanol bajo los distintos tratamientos, en cambio las ratas UChB solo cuando se les administra dosis aguda por vía oral. La tolerancia adquirida bajo las distintas formas de administración de etanol fue evitada en ambos linajes cuando las ratas fueron tratadas simultáneamente con pCPA.

FOSFORILACION DE NUCLEOPLASMINA POR CASEINA QUINASA 2 (Phosphorylation of nucleoplasmín by casein kinase 2). Taylor, A. y Connelly, C.C. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina y Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La nucleoplasmína es una proteína ácida que se encuentra en abundancia en el núcleo de los oocitos de *Xenopus laevis* y que es capaz de acelerar el ensamble de histonas y DNA en la conformación de los nucleosomas. Informes recientes indican que la fosforilación de esta proteína incrementaría su actividad de ensamble. En nuestro laboratorio hemos purificado la caseína quinasa 2 y demostrado que esta enzima sería la actividad mayoritaria en la fosforilación de proteínas ácidas en el núcleo de oocitos de *X. laevis*. Al incubarse nucleoplasmína con caseína quinasa 2 purificada se obtiene una clara fosforilación de la nucleoplasmína. Esta fosforilación, sin embargo, es atípica, pues no es sensible a la inhibición por concentraciones de heparina (10  $\mu\text{g/ml}$ ) que inhibe casi totalmente la fosforilación de caseína por esta misma enzima. La probabilidad de que la fosforilación de nucleoplasmína se deba a una actividad contaminante se redujo al comprobarse que la nucleoplasmína también se fosforila por una preparación de caseína quinasa 2 altamente purificada a partir de timo de ternera (donada gentilmente por el Dr. R. Weinmann). La anomalía en la falta de inhibición de la fosforilación de la nucleoplasmína por heparina podría deberse a la presencia de una seguidilla de 17 ácidos glutámicos en la secuencia de la nucleoplasmína que conformaría un polianión semejante a la heparina y de alta afinidad por la caseína quinasa 2.

[Este trabajo fue financiado por FONDECYT, The Council for Tobacco Research, OEA y la Universidad de Chile.]

**MODIFICACION POR N-ACETIL CISTEINA (N-AC) DE LOS NIVELES DE GLUTATION REDUCIDO (GSH) EN DIFERENTES SEGMEN-TOS RENALES EN PRESENCIA DE BROMOETILAMINA (BEA) (N-acetyl-cysteine induced modification of glutathione levels on different renal segments in the presence of Bromoethylamine).**

**Thieleman, L., Oberhauser, E., Rosenblut, G., De Geyter, A.**

Depto. Medicina Experimental, Facultad de Medicina, División Ciencias Médicas Norte y Sur, Universidad de Chile. (Patrocinio: Margarita Vega B.).

En la necrosis papilar renal inducida por BEA hemos demostrado una rápida disminución de GSH renal. La administración previa de N-AC evita esta necrosis e incrementa los niveles de GSH en el riñón entero. En el presente trabajo se determinaron niveles de GSH en corteza (C), médula externa (ME) y papila (P) renal. Ratas Dornjou recibieron N-AC (6 mmol/kg) s.c. e i.p. previo a BEA (250 mg/kg) i.v. y se decapitaron 1, 3, 6 y 24 horas post. BEA. Se cuantificó GSH por la técnica de Ellman en homogenizados de las diferentes porciones renales. Resultados: 1) con N-AC sola se observa en la primera hora una caída brusca y transitoria de GSH (35%) en la C, no observándose modificaciones significativas en ME y P. 2) con BEA se observa a las 6 horas una disminución de un 40% en la ME, y de un 19% en C. No se observan modificaciones significativas en P. 3) en los animales inoculados con N-AC y BEA la depleción de GSH en ME y C a las 6 horas, es menor que la obtenida con BEA sola, observándose además un gran incremento del GSH cortical (42%) a las 24 hrs. Este aumento coincide con el alza encontrada en riñón completo. Podemos concluir que 1) la mayor depleción de GSH renal inducida por BEA ocurre en ME y no en P y que 2) con la adición de N-AC que protege a la P de la necrosis por BEA se observa un incremento importante del GSH cortical.

**INFLUENCIA DEL SEXO Y DE AGENTES INDUCTORES EN LA HIDROXILACION REGIO Y ESTEREOESPECIFICA DE ANDROSTENEDIONA, CATALIZADA POR MICROSOMAS DE HIGADO DE RATA.** (Regio and stereospecific hydroxylation of androstenedione catalyzed by hepatic rat liver microsomes, effect of sex and inducing agents). Valdés, E., Lara, M., y Vásquez, H. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Androstenedione (A), es un agente androgénico débil que circula en la sangre periférica, actuando como prohormona en la síntesis de potentes andrógenos ensitos extraclandulares. La (A) es hidroxilada regio y estereoespecíficamente en varias posiciones del esqueleto esteroide por diferentes isoenzimas de citocromo P-450.

En este trabajo presentamos datos experimentales sobre la influencia del sexo y la administración de inductores de citocromo P-450 en la oxidación de (A). Microsomas de hígado de ratas hembras oxidaron (A) a una velocidad de 7.8 nmoles/min/nmol de citocromo P-450, y los de macho a una velocidad de 12.2 nmoles/min/nmol P-450. En ambos sexos se obtuvo los mismos metabolitos, salvo el 2 $\beta$ -OH(A) que está presente solo en machos. Importantes diferencias se observaron en la producción de algunos metabolitos, especialmente en el 16 $\alpha$ -OH(A) que se produjo en mucho mayor proporción en machos. Datos experimentales obtenidos por la administración de fenobarbital, muestran que los microsomas de ratas machos inducidos con este barbitúrico, oxidan (A) a una velocidad de 38.5 nmoles/min/nmol de citocromo P-450, esto es a una velocidad 3.2 veces mayor que la obtenida en ratas no inducidas. Aunque en ambos grupos se observa la producción de los mismos metabolitos, la hidroxilación en el C 16 incrementa drásticamente en las ratas inducidas de 2.33 a 34.5 nmoles/min/nmol P-450.

Estos resultados sugieren que el contenido de las diferentes isoenzimas citocromo P-450 varía con el sexo y la administración de inductores, explicando de esta manera las diferencias observadas en las hidroxilaciones regio y estereoespecíficas de (A).

Financiado por Proyecto B-1970/8745 del DIB, Universidad de Chile, y FONDECYT: 0573.

**CHOQUES ELECTROCONVULSIVOS REDUCEN LA UNION DE 125I-APAMIN A TEJIDO CEREBRAL DE RATA: VISUALIZACION AUTORRADIOGRAFICA.** (Electroconvulsive shocks reduce 125I-apamin binding to rat brain tissue: autoradiographic visualization). Valdés F., Rojas A.M., y Hernández F. Depto. Fisiología y Biof. Fac. de Medicina, Univ. de Chile.

El apamin es un polipéptido aislado de veneno de abeja que se une con alta afinidad a un tipo de canal de potasio activado por calcio (CPAC). Esto podría hacer al apamin útil en el estudio de un fenómeno molecular involucrado en la epileptogénesis, ya que la mantención de la hiperpolarización que pone término a un potencial epileptiforme, en neuronas corticales, es debida a uno de los CPAC que se han descrito. Como durante choques electroconvulsivos (CEC) se producen potenciales epileptiformes, nos propusimos estudiar si se producían cambios en la unión de apamin a tejido cerebral en ratas macho sometidas a CEC (1s, 110V, 50Hz, 19 días) comparadas con ratas control, no tratadas. Con tal fin, el apamin fue marcado con Iodo-125 e incubado (10pM, 30min) junto con cortes cerebrales coronales (16um, en portaobjetos), los que luego de lavados y secados fueron cubiertos con placas autorradiográficas (LKB Ultrafilm 3H). La comparación de las autorradiografías experimentales y controles evidencia una notable disminución en la unión de 125I-apamin en las experimentales. Dicha disminución, aunque generalizada, es particularmente notoria en hipocampo y probablemente refleja un Bmax disminuido, aunque también es interpretable como un cambio en Kd. Si Bmax está reducido, podría significar que en las neuronas ha disminuido la densidad en CPAC y sería un argumento a favor de la participación de los CPAC bloqueables por apamin en la epileptogénesis.

Financiamiento: Proyecto 1114/85 FONDECYT.

**DISECCION FENETICA DEL SEXO SICOLOGICO Y SOCIAL** (Phenetic analysis of psychological and social sex characters). Valenzuela, C. Y. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los estudios genéticos del desarrollo de la sexualidad humana se ven dificultados por la carencia de fenotipos inambiguos. También, las definiciones que existen proceden de interpretaciones teóricas, con lo que se produce un problema de circularidad. Para estudiar la geneticidad del carácter se necesitan definiciones operacionales.

De nuestra participación en un estudio longitudinal de crecimiento y desarrollo hemos madurado la idea que el sexo en su etapa postnatal presenta al menos tres instancias de diferenciación: a) La configuración apetecible; b) La autoasignación del rol en el apareamiento; c) La conducta social sexual; las dos primeras incluidas en el sexo psicológico y la tercera en el sexo social. Nuestra experiencia revela que fallas en la diferenciación pueden ocurrir en cualquiera de estas instancias, y toda la combinatoria de ellas es posible. Esta visión es distinta a la clásica que considera una variedad casi ilimitada de posibilidades de fallas en la diferenciación y a la de la Psiquiatría estadounidense que ha excluido a las fallas de diferenciación del campo patológico.

En relación a la homosexualidad de la adolescencia, hemos evidenciado que la configuración apetecible parece estar definida mucho antes de entrar a esta etapa. Esto cambia el concepto que la homosexualidad del adolescente es un período normal para todo joven. La aplicación de estas definiciones en el estudio de familias puede conducir a mejores conclusiones respecto de la geneticidad del carácter.

CARACTERIZACION PARCIAL DEL SISTEMA CELULOSA DE *LENTINUS LEPIDEUS* UN HONGO DE PUDRICION PARDA. (partial characterization of the cellulase system of *Lentinus lepideus*, a brown-rot fungus). Vázquez J., Rose M., Mancinelli, S. Depto. Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales. Universidad de Concepción. Depto. de Industrias Forestales. Universidad del Bío-Bío.

Muchos autores han demostrado que la hidrólisis de la celulosa nativa a azúcares solubles es un proceso que involucra la acción de un sistema multienzimático que presenta variadas actividades específicas según el microorganismo del cual proviene.

En este trabajo se diseñó un esquema de cultivo para la obtención del sistema celulasa. Se utilizaron tres medios de cultivos en los cuales la aparición de actividad se determinó a través de los días de cultivo del micelio. Se encontraron los mejores niveles de actividad CMCelulasa y Beta-glucosidasa en el medio que sólo contenía como fuente de carbono celulosa cristalina.

Los filtrados de medio de cultivo último se usaron como fuente de enzimas para la caracterización de estas actividades. Por precipitación con acetona se obtuvieron dos fracciones (SN y P), que contenían las actividades CMCelulasa, Xilanasas y p-NPGLucosidas. Se estudió la cinética de esta última actividad. La fracción SN mostró una Km de 0.285 mM y una inhibición parcialmente competitiva. La fracción P mostró una Km de 4.0 mM y una cinética de inhibición no competitiva por glucosa. Esta dos fracciones presentaron diferentes pH óptimos y termoestabilidad.

Estos resultados sugieren que se tratan de dos formas moleculares distintas con una marcada actividad aril- $\beta$ -glucosidasa, que hace de este componente un buen candidato como suplemento de un sistema celulasa.

CONSIDERACIONES EN LA ALIMENTACION DE LA TRUCHA ARCO IRIS EN LA HOYA DEL RIO IMPERIAL, IX REGION. (Rainbow trout feeding considerations at Imperial river basin, IX Region). Vega, R., R. Palma e I. Valdebenito. Laboratorio de Ecología. Depto. Ciencias Naturales. P. Universidad Católica de Chile-Sede Temuco.

*Salmo gairdneri* (Richardson 1836) es un pez exótico, carnívoro, introducido hace 70 años en la IX Región por su importancia económica. Se estudia la alimentación de esta especie y la abundancia de invertebrados bentónicos para evaluar a futuro su impacto en las especies presas nativas.

Se analizaron los contenidos estomacales de 134 ejemplares de los ríos Cautín e Imperial capturadas con red y caña en las cuatro estaciones del año (1986-1987). Simultáneamente se muestreó con Surber la fauna de invertebrados bentónicos del río Cautín frente a Temuco.

En el contenido estomacal se encontró: estados larvarios de Díptera, Trichoptera, Ephemeroptera, Plecoptera, Coleoptera y Odonata; Hemiptera y dos grupos importantes por su biomasa: Decapoda (Aeglidae) y Gastropoda (Basomatophora). Los grupos más frecuentes en los estómagos son: Díptera, Ephemeroptera y Plecoptera con un 62, 43 y 35% respectivamente. Las frecuencias de los grupos más importantes por su biomasa son: 17% Basomatophora, 15% Aeglidae y 14% Peces. En Primavera-verano los estómagos presentan algas acuáticas. Los invertebrados bentónicos son más abundantes en primavera-verano, alcanzando el orden Díptera valores superiores a 2,500 ind/m<sup>2</sup>.

Se discuten los resultados comparando las abundancias estacionales de los invertebrados bentónicos con las frecuencias de cada ítem alimentario, presentes en los estómagos de la trucha arco iris.

Financiado por Proyecto 2.85.4. Comisión de Investigación. P. Universidad Católica de Chile-Sede Temuco.

DEGRANULACION DE EOSINOFILOS SANGUINEOS Y UTERINOS BAJO CONDICIONES HIPERPROLACTINEMICAS. (Degranulation of blood and uterine eosinophils under hyperprolactinemic conditions). Vázquez, M.V., Silva, M., Unda, C., Arriagada, R. y Tchernitchin, A.N. Laboratorio de Endocrinología Experimental, Departamento de Morfología Experimental, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El edema endometrial es una respuesta estrogénica mediada por eosinófilos, los que migran al útero bajo estímulo estrogénico. Se han descrito diversos agentes que modifican la migración de eosinófilos al útero o su degranulación. Estos agentes potencian o inhiben las respuestas estrogénicas mediadas por estas células. Sin embargo, el edema endometrial inducido por estrógenos es potenciado bajo condiciones hiperprolactinémicas, sin que ocurran cambios significativos en el número de eosinófilos en el útero. Para explicar dicho fenómeno, el presente trabajo tuvo como objetivo investigar el efecto de implantes o reimplantes de adenohipófisis bajo la cápsula renal sobre la degranulación de los eosinófilos sanguíneos y uterinos. En estas condiciones se produce hiperprolactinemia.

Los datos obtenidos muestran que los implantes de adenohipófisis en ratas adultas ovariectomizadas inducen un leve aumento del porcentaje de eosinófilos degranulados in vivo y potencia enormemente la degranulación estrogénica inducida de eosinófilos in vivo e in vitro. En ratas impúberes los reimplantes de adenohipófisis inducen un aumento en la proporción de eosinófilos degranulados en el útero.

Estos resultados explican la interacción de la hiperprolactinemia con las respuestas estrogénicas mediadas por eosinófilos en el útero, y sugieren que bajo condiciones hiperprolactinémicas, las otras funciones de los eosinófilos pueden estar alteradas. Entre ellas, la regulación de las respuestas inmunes, la defensa contra parásitos, y el rol de los eosinófilos en las reacciones alérgicas.

Financiado por proyecto DIB B-2684-8715, U. de Chile.

FACTOR INHIBITORIO DE LA REPRODUCCION DE *Eisenia fetida* (Lumbricidae) Y SU EFECTO EN RATAS (*Rattus norvegicus*). (*Eisenia fetida* (Lumbricidae) fertility inhibitory factor, its effect on rats (*Rattus norvegicus*, Wistar)). Velásquez, L., Herrera, C., Ibáñez, I. Lab. Proteínas y Alimentos, Facultad de Química, Pontificia Universidad Católica de Chile.

INTRODUCCION.- *Eisenia fetida*, un Lumbricido terrestre, es ampliamente usado en la transformación de excedentes orgánicos. Industrialmente alcanza altas tasas de densidad donde la población sexualmente adulta inhibe su producción, pero en menor densidad poblacional vuelven a reproducirse normalmente. Se prueba este efecto inhibitorio sobre ratas Wistar, extrayendo lombrices en alta densidad, transformándolas en harina e incorporada a la dieta animal. Se tratará de inhibirlo térmicamente. METODOS.- Lombrices en densidad sobre 48 mil/m<sup>2</sup> se traen y convierten en harina, la que es incorporada al 20% de nivel proteico en dieta animal, usando como control caseína a igual nivel. 20 animales (10 machos, 10 hembras) de 21 días de edad, en jaulas individuales fueron alimentadas ad libitum y cruzados a los 80 días.

RESULTADOS.- El control mostró reproducción total con natalidad de 8.8±1.8 crías/camada. El grupo experimental no mostró reproducción en tres cruces sucesivas. Harina de lombriz tratada térmicamente (4 h a 60°C) mostró reproducción de 20% y 6.0±1.6 crías/camada. Un tratamiento térmico más severo (90°C por 1.5 h) mostró reproducción total y 7.1±1.5 crías/camada.

CONCLUSIONES.- Se demostró la existencia de un factor inhibitorio de la reproducción del anélido *Eisenia fetida*, el que manifiesta a altas densidades poblacionales. Se contrarresta parcialmente a 60°C por 4 h y totalmente a 90°C por 1.5 h. El efecto se evidencia sobre animales roedores, actuando sobre ambos sexos y su acción es reversible cuando deja de ingerirse. Se observó que el efecto estudiado estaría preferentemente asociado al flujo celomático expulsado por *Eisenia fetida* al momento de su beneficio.

ACTIVIDAD DNA PRIMASA DE FORMAS EPIMASTIGOTES DE T. CRUZI. (DNA primase activity of T. cruzi epimastigotes forms). Venegas, J., Solari, A. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El parásito Trypanosoma cruzi agente causal de la enfermedad de Chagas posee múltiples formas celulares en su ciclo de vida, algunas de las cuales poseen y otras no la capacidad de proliferar. En este trabajo se muestra un estudio de una actividad enzimática participante en la iniciación de la síntesis de DNA, enzima conocida como DNA primasa.

Se presenta información respecto de su detección así como de las DNA polimerasas DNA dependientes que participan acopladas en la elongación de la síntesis de DNA. Hemos montado un ensayo de DNA monohebra NTP, dNTP (uno de los cuales es radioactivo) y una fuente de DNA primasa y DNA polimerasa aportada por extractos dializados de T. cruzi. En estas condiciones de ensayo la DNA primasa sintetiza un RNA partidor el cual es sustrato para la DNA polimerasa.

Luego de probar diferentes DNA monohebra como sustrato, quedó en evidencia la preferencia de la DNA primasa por poli dT y la dependencia total por ATP. Experimentos tendientes a caracterizar la actividad DNA polimerasa que actúa acoplada, permitieron concluir que esta es estimulada fuertemente por ATP.

Al caracterizar la actividad DNA primasa con  $\alpha$ -amanitina encontramos que este no inhibe la actividad enzimática. Este resultado así como la especificidad por poli dT y la dependencia por ATP apoyan la idea que la actividad enzimática encontrada es una DNA primasa.

Financiado por DIB Universidad de Chile y UNDP/World Bank/WHO TDR.

IMPORTANCIA DE LOS RADICALES LIBRES DE O<sub>2</sub> EN EL DAÑO MIOCARDICO ISQUEMICO. (Oxygen derived free radicals in myocardial ischaemia). Venegas, P., Macho, P., Domenech, R. Departamento de Preclínicas, División Ciencias Médicas Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los radicales libres derivados del oxígeno son probables mediadores en el daño miocárdico inducido por la isquemia y reperusión. Nosotros evaluamos la utilidad de la superóxido dismutasa (SOD) y de la catalasa (CAT), enzimas depuradoras de radicales libres, para proteger del daño miocárdico producido por la isquemia y reperusión. En 18 perros anestesiados se ocluyó la arteria coronaria circunfleja (AC) durante 90 minutos y luego se reperfundió durante 6 hrs. Se estudiaron dos grupos: Grupo A (n=8) que recibió SOD (3.000 u/mg) 0,25 mg/kg y CAT (34.000 u/mg) 0,25 mg/kg por vía intracoronaria, desde 5 minutos antes de la oclusión hasta 45 minutos de reperusión. Grupo B (n=9) recibió solución salina 9‰ en igual forma. Las áreas de riesgo e isquemia se delimitaron con tinción de Azul de Evans y Trifeniltetrazolium y se midieron por planimetría. Se registró presión ventricular izquierda, dp/dt y presión aórtica. Se determinó la longitud y el acortamiento segmentario en la zona isquémica y en zona no sujeta a isquemia mediante cristales ultrasónicos. El Grupo A presentó una zona de necrosis significativamente menor como % de área de riesgo ( $15.7 \pm 5$  - vs -  $34.0 \pm 5.9$  %) ( $p < 0.001$ ). Este efecto no se debió a diferencias en el área de riesgo ni de las variables hemodinámicas entre los grupos (análisis de correlación múltiple). En ambos grupos el acortamiento del segmento isquémico disminuyó significativamente durante el período de oclusión coronaria y sólo se recuperó parcialmente durante la reperusión, no existiendo diferencias entre ambos grupos.

Estos resultados muestran que la SOD y la CAT protegen del daño miocárdico producido por la isquemia y reperusión, apoyando la hipótesis que los radicales libres participan en la patogenia de este daño.

(Proyectos: M 1890 y M 2607 DIB., Universidad de Chile).

¿HAY EXPRESION GENICA DIFERENCIAL DE APOLIPOPROTEINA A-I DURANTE LA ACLINATACION ESTACIONAL DE LA CARPA? (Is apolipoprotein A-I differential gene expression involved in the carp fish acclimatization?) Vera, M.L., León, G., Alarcón, A. y Krauskopf, M. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Hemos postulado que la respuesta que generan los peces eurietales para compensar los cambios estacionales de la temperatura ambiente, implica un ajuste selectivo de la expresión de genes comprometidos en el proceso adaptativo. El conocimiento de la organización y función de estos genes podría no sólo contribuir a conocer la respuesta adaptativa a temperatura, sino que además aspectos relativos a la regulación de la transcripción en eucariotes.

Estudios en hepatocitos aislados del pez *Cyprinus carpio* nos han permitido confirmar que la síntesis de proteínas es cuali y cuantitativamente distinta entre verano e invierno. En efecto, en la estación fría, la velocidad de síntesis es menor, como también el número de proteínas que se detectan. Puesto que apolipoproteína A-I (Apo A-I) es la seroproteína más abundante de la carpa, aún cuando su nivel sérico no varía significativamente entre las estaciones estudiadas, investigamos su síntesis en suspensiones de hepatocitos. Los resultados sugieren que en invierno la velocidad de síntesis de Apo A-I es notoriamente menor que en verano. Por otra parte la cantidad de Apo A-I sintetizada en invierno a 10<sup>6</sup> representa 21% del total cuantificado, mientras que a 20<sup>6</sup> representa sólo un 13% del total. Con anticuerpos contra Apo A-I de carpa preparados en conejo y cabra se estudió la localización intracelular por inmunocitoquímica. Este procedimiento, sumado al anterior, se está utilizando para verificar posibles cambios en la síntesis y acumulación de Apo A-I entre ambas estaciones. Simultáneamente se está construyendo una genoteca de cDNA en *lambda*-gt11 para aislar el gen y estudiar su transcripción.

Proyectos FONDECYT 160/1987 y DIC-UACH RS-86-29.

RITMO DE 24 HORAS DE PROLACTINA PLASMÁTICA EN CORDEROS RECIENTES NACIDOS: (24-hours rhythm of prolactin in newborn sheep). Vergara, M., Parraguez, V., Tevah, J., Llanos, A. y Serón-Ferré, M., Laboratorio de Endocrinología, Facultad de Ciencias Biológicas, P.U. Católica de Chile, Laboratorio de Fisiología y Fisiopatología del Desarrollo, Depto. de Preclínicas, Ciencias Médicas Oriente, Facultad de Medicina, U. de Chile.

En adultos, la concentración plasmática de prolactina presenta un ritmo de 24 hrs. generado endogenamente. Investigamos la existencia de ritmos de 24 hrs. para prolactina en 23 corderos de 5 a 27 días de edad con catéteres en arteria y vena femorales y mantenidos en condiciones nictimerales. Grupo A, edad 5-12 días, n=11; Grupo B edad 18-27 días, n=7; y en luz continua Grupo C, edad 20-25 días, n=5. La concentración plasmática de prolactina se midió por RIA cada 1 ó 2 hrs. durante 24 hrs. para grupo A y B y cada hora durante 48 hrs. para el Grupo C.

En el grupo A, la prolactina plasmática mostró variación con un período de 24 hrs. que puede representarse por: prolactina plasmática (ng/ml) =  $75.3 + 12.9 \cos 15 (t - 12.0)$  ( $p = 0.036$ ). En el grupo B no se observó variación. En el grupo C, aún cuando el promedio no indica variación circadiana, todos los corderos presentaron ritmo en al menos uno de los días estudiados. Además, estos corderos muestran ritmos de mayor amplitud que los corderos de la misma edad mantenidos en condiciones nictimerales ( $p < 0.025$ ).

Nuestros datos muestran que en los corderos el generador de ritmo de prolactina estaría presente entre la primera y segunda semana de edad. Además sugieren que el mecanismo que reconoce el fotoperíodo está presente a esa edad, ya que el ritmo de prolactina plasmática aumenta su amplitud en luz continua y desaparece en fotoperíodo corto, como se observa en la oveja adulta.

\* (12 horas luz; 12 horas oscuridad).  
Financiado por DIUC 56/84, 73/86, Rockefeller 83016, DIB 2183-8733.

CAMBIOS DE REACTIVIDAD DE RECEPTORES MUSCARINICOS CARDIACOS DE GATO INDUCIDA POR VAGOTOMIA CRONICA BILATERAL. (Changes of reactivity of cat cardiac muscarinic receptors induced by chronic vagotomy). Vergara, V. y Pettrizio, L. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En trabajos realizados anteriormente demostramos que la vagotomía crónica previa produce en el músculo papilar aislado y eléctricamente dirigido un bloqueo de la respuesta inotrópica al estímulo con alto voltaje (AV) así como a la adición de tiramina.

En aurícula izquierda y músculo papilar aislados eléctricamente dirigidos, se registró la tensión desarrollada (TD). En aurícula izquierda de gato vagotomizado la estimulación con alto voltaje produjo una disminución significativa de la TD ( $-81,5 \pm 2,2\%$ ) que contrasta con un efecto inotrópico positivo en aurículas testigos ( $+34,3 \pm 6,7\%$ ). La exposición previa a atropina ( $1,44 \mu\text{M}$ ) revierte este efecto en la primera preparación produciendo un aumento de la TD ( $+90,9 \pm 12,9\%$ ).

En esta serie de músculos papilares de gatos vagotomizados el alto voltaje indujo un aumento gradual de la TD que alcanza  $+19,8 \pm 4,6\%$  en tanto que en músculos testigos este alcanzó  $+41,9 \pm 10,8\%$ . La presencia de atropina ( $1,44 \mu\text{M}$ ) revierte parcialmente este efecto en músculos de gato vagotomizados hasta llegar a  $+24,3 \pm 5,7\%$ .

En músculos papilares de gatos testigos la tiramina ( $1,7 \mu\text{M}$ ) indujo un inotropismo de  $+31,3 \pm 6,2\%$  mientras que los músculos de gato vagotomizados mostraron un aumento de la TD de sólo  $+10,5 \pm 2,9\%$ ; esta diferencia es revertida por adición de atropina ( $1,44 \mu\text{M}$ ) que incrementó el inotropismo y la TD aumentó en magnitud ( $33,7 \pm 9,3\%$ ) similar a la obtenida en músculos de animales testigos.

Estos resultados permiten concluir que la vagotomía crónica bilateral modifica la reactividad a estímulos inotrópicos y probablemente induce una supersensibilidad de los receptores muscarínicos cardíacos de gato.

Proyecto B 2680-8715, DIB, Universidad de Chile.

REACCION DEL ACROSOMA EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS INCUBADOS IN VITRO BAJO DISTINTAS CONDICIONES EXPERIMENTALES. (Acrosome reaction of human spermatozoa incubated under different experimental conditions).

Vigil, P., Herrera, E., Leontic, E., Luna, L. y Valdez, E. Laboratorio de Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La composición del medio de cultivo utilizado para capacitar espermatozoides humanos in vitro puede modificar el porcentaje de reacción acrosómica de la población de espermatozoides a un tiempo determinado.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el porcentaje de reacción acrosómica y la capacidad fértil de espermatozoides humanos almacenados durante 24 horas en medio de cultivo BWW suplementado con suero de cordón fetal al 8%. Estudios ultraestructurales de microscopía electrónica de transmisión mostraron que 112 de 138 (81.16%) espermatozoides conservaban el acrosoma intacto después de ser almacenados por 24 horas en BWW (SCF 8%). Ello comparado con un 99% (201/203) de espermatozoides con acrosoma intacto en espermatozoides recién eyaculados (grupo control). El porcentaje de fecundación de ovocitos de hamster sin zona pelúcida fue de 40.8% (308/755) para espermatozoides del grupo control. El porcentaje de fecundación después de almacenar los espermatozoides por 24 horas en medio BWW (SCF 8%) fue de 59.6% (377/632). La variación del porcentaje de fecundación no mostró diferencia estadísticamente significativa para el total de casos estudiados. Sin embargo, en espermatozoides obtenidos de muestras seminales clasificadas como normales se observó un aumento ( $P < 0.05$ ) en el porcentaje de fecundación de los ovocitos.

De acuerdo a las observaciones ultraestructurales obtenidas se discute las características de la reacción del acrosoma en el espermatozoide humano y su relación con diferentes condiciones de capacitación espermática in vitro. Financiado por Proyecto DIUC 74/87 y Fundación Rockefeller GA PS 8710.

RESPUESTA DEL BANCO DE SEMILLAS DEL DESIERTO COSTERO DE LA IV REGION A PRECIPITACION ARTIFICIAL. (Response of the seed bank of the coastal desert of northern Chile to artificial precipitation). Vidiella, P. y Armesto, J. Laboratorio de Sistemática y Ecología Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Se realizaron experimentos de terreno y laboratorio con el fin de determinar los umbrales de respuesta del banco de semillas del desierto costero del Norte Chico frente a distintos regímenes de precipitación artificial. Se utilizaron macetas conteniendo muestras de suelo homogenizado para dos profundidades: 0-3 cm (superficial) y 3-6 cm (profundo). Estas fueron sometidas a 10 regímenes de precipitación artificial distintos (entre 0 y  $> 200$  mm). El agua fue distribuida en dos riegos semanales de 7 mm cada uno. Dos días después del término de cada tratamiento se identificaron y contabilizaron todas las plántulas en cada maceta.

Los tratamientos revelaron diferencias en cuanto al número de especies y al número total de individuos que germinaron. Ambos parámetros aumentan proporcionalmente con el incremento en la precipitación, pero la cantidad de agua que produce el máximo de germinación es distinta para cada especie. Los datos de laboratorio fueron coincidentes con los de terreno, aunque el número total de especies que germinó fue mayor en este último. La cantidad de semillas germinadas fue siempre más alta en suelo superficial. Los datos sugieren que se requiere una cantidad mínima entre 40 y 80 mm de precipitación para observar la germinación de algunas especies características del llamado "desierto florido".

Los resultados indican una alta sensibilidad de las especies del desierto costero a la cantidad de agua caída. Este factor puede ser importante en determinar la composición de especies de las comunidades efímeras del desierto.

Financiado por Proyecto O.E.A.

LOCALIZACION VESICULAR DE TRANSMISORES PARA RECEPTORES DE TIPO QUISQUALATO Y N-METIL-D-ASPARTATO. (Vesicular location of transmitters for quisqualate and NMDA receptors). Villanueva, S. y Orrego, E. Depto. Fisiol. y Biofis. Fac. de Med. U. de Chile.

Una importante fracción de las sinapsis excitatorias centrales pueden ser activadas experimentalmente por la aplicación de L-glutamato (L-glu). La acción de dicho aminoácido sobre sitios post-sinápticos ha sido profusamente estudiada, estableciéndose tres subtipos de receptores: tipo N-metil-D-aspartato (NMDA-R), tipo quisqualato (QA-R) y tipo kainato (KA-R). Cada uno de éstos, sin embargo, es activable por numerosas sustancias endógenas, lo que nos llevó a estudiar la naturaleza de los transmisores fisiológicos.

Trabajos previos de este laboratorio demostraron que el L-glu es el neurotransmisor para KA-R. En el presente trabajo hemos utilizado la unión de  $^3\text{H}$ -L-glu a densidades post-sinápticas aisladas, que contienen QA-R y NMDA-R bloqueables selectivamente, como un radioensayo de detección de transmisores. Empleando vesículas sinápticas de corteza cerebral de rata, altamente purificadas, y fraccionando su contenido por electroforesis de alto voltaje, hemos detectado cantidades apreciables de L-glu y L-aspartato en éstas. En base a las afinidades relativas de estos agonistas por cada receptor, se postula al L-glu como neurotransmisor para QA-R; en tanto que NMDA-R sería susceptible a activación por ambos transmisores. (Apoyado por proyectos DIB, U. de Chile, y FONDECYT).

EFEECTO DE LA REMOCION ENDOTELIAL EN LA RESPUESTA VASO-CONSTRICTORA A AGONISTAS ALFA-ADRENERGICOS EN AORTA DE RATA. (Effect of endothelial removal in the contractile response to alfa-adrenergic agonist in rat aorta).  
Vinet, R\*, Palomino, M., Acuña, P. y Pinardi, J.\*\*.  
 Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Laboratorio de Farmacología, Escuela de Química y Farmacia, Universidad de Valparaíso. (Patrocinio: M. Penna).

El endotelio vascular cumple un importante rol en la modulación de la reactividad del músculo liso vascular, especialmente en la vasodilatación producida por varios agonistas. Sin embargo, su rol en las respuestas a agentes vasoconstrictores ha sido poco estudiada.

En el presente trabajo, se estudió la posible participación del endotelio vascular en la respuesta vasoconstrictora inducida por agonistas alfa-adrenérgicos. Para ello se montaron anillos de aorta torácica, con y sin endotelio en solución Krebs-Henseleit oxigenada a 37° C, y se registró la contracción isométrica con dosis acumulativas de N-epinefrina (agonista alfa inespecífico), fenilefrina (agonista alfa-1) y clonidina (agonista alfa-2), mediante un transductor de tensión FT-03 conectado a un Polígrafo Grass.

Las curvas dosis-respuestas mostraron que la remoción del endotelio aumenta significativamente los valores de ED50 para los tres fármacos ensayados.

Los resultados sugieren que el endotelio estaría modulando la vasoconstricción producida por estos agentes, posiblemente liberando un factor relajador por los agonistas alfa-adrenérgicos.

\* Alumno del Programa de Magister.

\*\* Profesor Visitante, Universidad Central, Venezuela.

**SOLUBILIZACION DE ACETILCOLINESTERASA POR GLICOSAMINOGLICANES Y CARRAGENOS.** (Solubilization of Acetylcholinesterase by glycosaminoglycans and Carragenanes). von Bernhardt, R. y Ayal, H. Unidad de Neurobiología Molecular, Universidad Católica de Chile y Depto. de Química, Universidad de Santiago (Patrocinio: N.C. Inestrosa).

La acetilcolinesterasa (AChE) asimétrica se encuentra asociada a la matriz extracelular de las sinapsis colinérgicas por proteoglicanos del tipo de heparan sulfato o dermatan sulfato. Previamente se ha demostrado que glicosaminoglicanos (GAGs) del tipo de heparina solubilizan la enzima. En este trabajo se estudió el efecto de distintos tipos de heparina, y carragenos (polisacáridos extraídos de algas) sobre la especificidad de la solubilización de la AChE.

Se observó que heparina solubiliza la mayor parte de las formas asimétricas de la enzima, presentando las heparinas de bajo peso molecular una solubilización de un 15% superior a la obtenida con heparinas de pulmón e intestino sin fraccionar. Curvas de dosis-respuesta con carragenanos mostraron una solubilización lineal, extrayendo los distintos carragenanos entre un 20% al 60% de lo solubilizado por heparina. Esto puede ser un elemento útil en la caracterización y clasificación de los carragenanos extraídos de algas del litoral chileno. Actualmente se realizan estudios con heparina desulfatada y dermatan sulfato, junto a nuevos tipos de carragenanos, tanto en experimentos de solubilización como de cromatografía de afinidad. Pensamos que estos estudios entregan importante información sobre factores involucrados en el anclaje de la AChE a la matriz extracelular.

Financiado pro DIUC 77/86 al Dr. N.C. INESTROSA

EXPANSION DE LAS TUNDRAS MAGALLANICAS DURANTE LA ULTIMA GLACIACION: EVIDENCIAS PALINOLOGICAS DEL NORTE DE LA ISLA GRANDE DE CHILOE. (Expansion of Magellanic Moorlands during the last Glaciation: palynological evidence from northern Isla Grande de Chiloé) Villagrán, C., Depto. Biología, Facultad de Cs., Univ. de Chile. Se documenta la vegetación glacial de Chiloé a través del análisis de polen de una turbera situada en Río Negro (42°03'S).

En la base del perfil se observan máximos de Cyperaceae que culminan con el desarrollo de tundra de Astelía y Donatia, a los 30.480 años A.P. Se infiere de este espectro una tendencia hacia condiciones frías y lluviosas. Entre esta fecha y ca. de 27.000 años A.P., dominan indicadores de estepa (Compositae/Gramineae), manifestando una oscilación climática hacia mayor aridez. A partir de 27.000 años, se observa un paulatino aumento del arbusto de tundra Dacrydium, culminando en una segunda fase de tundra de Astelía, a los 18.090 años A.P. Se interpreta esta sucesión como asociada al reinicio de la tendencia hacia clima frío y muy lluvioso. El límite Pleistoceno-Holoceno coincide con un cambio de sedimentos turbosos hacia arcillas, disminución de flora de tundra y predominio de Gramineae/Compositae y taxa palustres, vegetación que se extiende hasta 7.170 A.P. Desde este tiempo hasta el presente aparecen taxa de bosque nordpatagónico y valdiviano, formaciones actualmente dominantes en la zona de estudio.

Tanto la flora como el clima que sugieren los espectros de polen de Río Negro, conducen a una interpretación de la vegetación glacial de la I. Grande como equivalente a Tundra Magallánica, con óptimo distribuciónal al oeste de Tierra del Fuego (52-56°S). Esto implicaría una migración glacial de esta formación en, al menos, 6° de latitud hacia el norte. De acuerdo al clima actualmente asociado a las tundra, esta expansión areal significaría un descenso mínimo de 4°C de las temperaturas promedio y un aumento de las precipitaciones anuales de, al menos, 1500 mm.

(Financiado por: DIB 8745/FONDECYT 1467)

**DIFERENCIACION E INFECTIVIDAD EN POBLACIONES CHILENAS DE TRYPANOSOMA CRUZI.** (Differentiation and infectivity in Chilean T. cruzi Populations) Wallace, A., Sánchez, G. Departamento de Medicina Experimental y Departamento de Bioquímica Norte, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (Patrocinio: A. Solari I.)

La heterogeneidad de poblaciones de Trypanosoma cruzi y las variaciones en el desarrollo de la enfermedad en el hombre, han provocado un interés creciente en la caracterización bioquímica y biológica de poblaciones de T. cruzi obtenidas de pacientes humanos y vectores. En este trabajo se presentan los resultados preliminares del análisis comparativo en base a la capacidad de diferenciación "in vitro" de formas epimastigotas a tripomastigotas metacíclicas de poblaciones chilenas de T. cruzi clasificadas por sus Zimodemas. Además se estudió la infectividad en ratones inmunosuprimidos y el comportamiento biológico de estas cepas. Poblaciones clasificadas como vertenientes a Zimodema Z1 muestran altos porcentajes de diferenciación a tripomastigotas metacíclicas (65-85%). Bajo las mismas condiciones experimentales las poblaciones de T. cruzi clasificadas como Z2 presentan porcentajes bajos de diferenciación (de 25%). La capacidad infectiva de las poblaciones diferenciadas "in vitro" fue probada en ratones inmunosuprimidos. Las poblaciones Z1 mostraron una gran capacidad infectiva, detectándose para sitemias altas. En cambio, las poblaciones Z2 mostraron escasa capacidad infectiva con parasitemias negativas o bajas, las que no fueron modificadas por pasajes sucesivos en ratón. En los animales infectados se detectaron parasitemias positivas en tiempos variables, aunque no superiores a 30 días para las distintas cepas. Financiado por UNDP/World Bank/WHO/TDR.

MODIFICACION DE LA PIRUVATO QUINASA DE LEVADURA POR 8-AZIDO-1,N<sup>6</sup>-ETENO-ADP. (Modification of yeast pyruvate kinase by 8-azido-1,N<sup>6</sup>-etheno-ADP). Wilkens, M., Salas, L., Hidalgo, M. y Bazaes, S. Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Se probó el 8-azido-1,N<sup>6</sup>-eteno ADP ( $\epsilon$ N<sub>3</sub>ADP) para marcar el sitio activo de la piruvato quinasa de levadura.

La enzima al ser irradiada en presencia de  $\epsilon$ N<sub>3</sub>ADP se inactiva progresivamente hasta alcanzar un valor estable de actividad residual el cual depende de la concentración de  $\epsilon$ N<sub>3</sub>ADP empleada. Se encontró una relación hipérbolica entre pérdida de actividad y concentración de  $\epsilon$ N<sub>3</sub>ADP.

Los nucleótidos ATP y ADP en presencia o ausencia de Mg<sup>2+</sup> protegen eficazmente a la enzima de la inactivación. El Mg<sup>2+</sup> hasta concentraciones de 10mM favorece la inactivación pero no tiene efecto a concentraciones mayores. El PEP no tiene efecto protector pero PEP en presencia de Mg<sup>2+</sup> presentan un discreto efecto protector. El factor alostérico FDP más Mg<sup>2+</sup> casi no protege, tampoco FDP + PEP, pero la combinación de FDP con PEP y Mg<sup>2+</sup> produce una muy buena protección la cual no se observa con la mezcla piruvato, FDP y Mg<sup>2+</sup>. La enzima parcialmente inactivada por  $\epsilon$ N<sub>3</sub>ADP presenta las mismas Km para el ADP y el PEP. La enzima protegida tanto por ATP + Mg<sup>2+</sup> o por FDP, PEP y Mg<sup>2+</sup> es más resistente a la digestión por tripsina o por subtilisina que la enzima en ausencia de los protectores.

Los resultados descritos sugieren que el  $\epsilon$ N<sub>3</sub>ADP se une al sitio activo de la piruvato quinasa de levadura, hecho que se puede aprovechar para estudios estructurales de dicho sitio.

Proyecto DIUC 79/87, Pontificia Universidad Católica de Chile.

DESCOMPOSICION DE HOJARASCA Y REDISTRIBUCION INTERNA DE NITROGENO EN ESPECIES DE DIFERENTE FORMA DE VIDA DEL MATORRAL CHILENO (Litter decomposition and nitrogen translocation in different life-form species of the Chilean matorral). Yates, L.R.; Aljaro, M.E. y Avila, G. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La estructura foliar, el cociente C:N y la concentración de nitrógeno, que varían con el grado de esclerofilia, han sido sindicados como determinantes de la velocidad de descomposición de la hojarasca. El propósito de este estudio es averiguar si especies como *Trevoa trinervis* y *Talguenea quinquinervia* (malacófilas-deciduas); *Colliguaya odorifera* (semiesclerófila, semidecidua) y *Kageneckia oblonga* y *Cryptocarya alba* (esclerófilas siempreverdes) tienen distinta velocidad de descomposición y si ésta se relaciona con la composición y características de sus hojas.

La descomposición se estimó mediante el método de las bolsas de malla; el nitrógeno se midió mediante el método de Kjendahl y el carbono mediante calcinación.

La vida media de la hojarasca de *T. trinervis* y de *T. quinquinervia* es de 8.6 y 11 meses respectivamente mientras que para *K. oblonga* y *C. alba* estos valores son de 1.9 y 2.9 años. La hojarasca de *C. odorifera* presenta valores intermedios. La concentración inicial de nitrógeno de la hojarasca es tres veces mayor en *T. trinervis* y *T. quinquinervia* (1.2%) que en *K. oblonga* y *C. alba* (0.4%). Una relación semejante ocurre con el cociente C:N. La velocidad de descomposición en estas especies muestra una relación inversa con el índice de esclerofilia, el cociente C:N, y la redistribución interna de nitrógeno.

Se interpretan estos resultados en función de las características fenológicas y ecológicas de estas especies.

Proyecto # 1179 FONDO NACIONAL DE CIENCIAS. Participó además en el proyecto el Profesor Francisco Sáiz.

DINAMICA POBLACIONAL DEL OSTION PERUANO *Argopecten purpuratus* DURANTE EL FENOMENO DE EL NIÑO, 1983. (Population dynamics of the Peruvian scallop *Argopecten purpuratus* (L) during the El Niño phenomenon of 1983.

Wolff, M. Departamento Biología Marina, Universidad del Norte, Sede Coquimbo. (Patrocinio: E. Dupré).

Population size, growth, and mortality rates of the Peruvian scallop (*Argopecten purpuratus*) were studied during the El Niño event of 1983 in the fishing area of Pisco, Peru. Gonadal index and larval abundance of this scallop as well as measurements of in situ temperature, dissolved oxygen and plankton volumes were taken to record spawning activity and environmental conditions. The scallop population size exceeded 60 times that of "normal" years. It is thought to be due to a significant increase in survival rate of larval and juvenile scallops, and/or intensified spawning activity with subsequent recruitment in the warm El Niño waters. Only small scallops (15 mm to 45 mm shell height) showed accelerated growth due to elevated temperatures. Total mortality (Z) was estimated as 2.5, natural mortality (M) as 1.0. The hypothesis is proposed that *Argopecten purpuratus* is a relict of a tropical/subtropical fauna inhabiting the Peruvian and Chilean waters in the Miocene, that has maintained its warm water characteristics during evolution in the cold upwelling water because of periodic post Miocene El Niño events.

AISLAMIENTO DE FENOLES Y DETERMINACION DE LA CONCENTRACION Y PATRONES ELECTROFORÉTICOS DE PROTEINAS EN POBLACIONES DEL GENERO *Atriplex*. (Concentration and electrophoretic patterns of proteins, and phenols isolation in *Atriplex* populations). Zepeda S. Depto. de Biología, Facultad de Ciencias Universidad de la Serena.

El género *Atriplex* es abundante en el norte chileno, en la actualidad está representado por 10 especies, se han identificado numerosas poblaciones en muchas de las cuales no está claramente definida su posición taxonómica. *A. repanda* se encuentra reducida a poblaciones pequeñas y aisladas territorialmente y con alta variabilidad en terpopoblacional, lo que sugiere una diferenciación ecotípica. En este trabajo se estudian y comparan algunas diferencias bioquímicas entre las especies *A. microphila*, *A. semibaccata* y 7 poblaciones de *A. repanda*, lo que permite establecer con mayor precisión el nivel de diferenciación alcanzado.

Se realizó un estudio de la concentración de proteínas y fenoles totales en sobrenadantes de homogeneizados obtenidos de frutos y semillas. Los compuestos fenólicos no ligados a proteínas fueron aislados por medio de filtración en Sephadex G-25. Utilizando las soluciones proteicas, se realizó electroforesis en geles de poliacrilamida según la técnica de Davis (1964).

Las concentraciones de proteínas fluctuaron entre 2,9 ± 0,7 y 14,3 ± 1,2 mg/g tejido correspondiendo los valores altos a poblaciones del interior de la IV Región y los menores a las poblaciones de la zona costera.

Al comparar los resultados de la electroforesis se encontraron diferencias en el número de proteínas de migración aniónica. Cada una de las especies estudiadas presenta un patrón de bandas proteicas. Algunas poblaciones de *A. repanda* tienen igual número de proteínas, pero hay bandas con distintas movilidades electroforéticas.

La obtención de patrones electroforéticos de proteínas para cada población y especie, sugiere la existencia de una diferenciación genética.

Proyecto 130.2.07., D.I.U.L.S.

SISTEMAS GENÉTICOS H-2 y t, DE RATONES DE POBLACIONES NATURALES DE CHILE. (Genetics systems H-2 and t of wild mice from natural populations of Chile). Zúñiga, C., Pizarro, O., Fuenzalida, S., Vergara, U. y Tapia, G. Unidad de Biología, Depto Ciencias Biológicas, Div. Cs. Médicas Occidente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En el cromosoma 17 del ratón están ubicados dos sistemas genéticos complejos: el H-2 y t. Los genes H-2 controlan la presencia de antígenos de membrana que funcionan como moléculas de reconocimiento y restricción en las interrelaciones del sistema inmune. Los genes del sistema t afectan una serie de características: largo de la cola, letalidad, recombinación genética, etc. Según su capacidad de complementarse o no los letales son clasificados en grupos de complementación.

Las poblaciones presentadas en este trabajo proceden de 9 localidades, desde Antofagasta a Temuco. Las técnicas utilizadas para estudiar el H-2 son hemaglutinación y absorción y para el sistema t, análisis de cruzamientos con ratones de laboratorio que portan el haplotipo T, letal y dominante, cuya interacción con los t produce animales sin cola.

Los resultados indican: gran polimorfismo H-2 con ausencia de la mayoría de los antígenos conocidos en los ratones de laboratorio. De éstos los más frecuentemente encontrados son H-2. 1,3,5,8,28. Se agregan antígenos propios de los silvestres, algunos comunes a varios haplotipos y otros privados (presentes en un solo haplotipo). Del sistema t han aparecido cromosomas t en 12 de los 13 haplotipos estudiados. Tres son letales, uno de ellos apareció en el laboratorio.

ESPECIFICIDAD DE UNIÓN DE CATIONES A LAS REGIONES CARBOXILO TERMINAL DE TUBULINA. (Specificity of cations binding to tubulin carboxyl termini). Acoria, M., Antonelli, M., De la Cerda, S. y Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Tubulina, un dímero de peso molecular 110.000 posee en su estructura toda la información necesaria para formar microtúbulos a 37°C. La estructura del polímero depende de la naturaleza del metal presente en el medio: se forman microtúbulos con los iones Mg(II), Al(III) y Mn(II) y hojas con los iones Zn(II) y Co(II). Hemos caracterizado los sitios de unión con el ion Tb(III), sonda fluorescente ampliamente utilizada en reemplazo de Mg(II) y Ca(II). El espectro de emisión de terbio en presencia de tubulina, excitado a 295 nm muestra tres máximos de emisión a 490, 546 y 586 nm. GTP libre no modifica el espectro. Cuando se titula la tubulina a 20°C con terbio, en presencia de 150 mM magnesio, la unión del lantánido se ve impedida. Esto se evidencia por la disminución de la intensidad de fluorescencia y de la turbidez de la solución. La adición de Mg(II) después de la titulación con terbio no tiene efecto. Estos resultados indican que la unión de terbio a la tubulina induce su polimerización a bajas temperaturas, que Mg(II) se comporta como inhibidor y que la polimerización haría inaccesibles los sitios para el terbio. La polimerización inducida por terbio, a diferencia de la inducida por magnesio, no se ve afectada por calcio. Al utilizar la sonda fluorescente 4',6-diamino-2-fenilindol (DAPI) hemos observado que la unión de Mg(II) y Ca(II) a sitios de baja afinidad presenta un comportamiento similar. La digestión de tubulina con subtilisina libera un péptido de 4 kDa, con alta densidad de cargas negativas, desde la región carboxilo terminal. Estamos utilizando este fragmento para establecer una relación entre esta región y los sitios de unión de baja afinidad para los metales.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1462/86

## INDICE DE AUTORES / AUTHORS' INDEX

Arch. Biol. Med. Exp.

Vol. 20, Nº 2, 1987

- Abad, E., R245  
 Abarca, J., R170  
 Accatino, L., R237  
 Acevedo, C.G., R170  
 Acevedo, E., R170  
 Acevedo, R., R221  
 Acevedo, X., R170  
 Acoria, M., R259  
 Acuña, A.P., R171  
 Acuña, J., R158  
 Acuña, M., R217  
 Acuña, P., R257  
 Afani, A., R225  
 Agosín, E., R197  
 Aguilera, L., R171, R226  
 Ahumada, A., R171  
 Ahumada, F., R249  
 Ainol, L., R171  
 Akaboshi, S., R156  
 Alarcón, A., R255  
 Alarcón, J., R249  
 Alarcón, M., R184  
 Alay, F., R172  
 Alberdi, M., R196  
 Albertini, R., R180  
 Alcayaga, C., R172  
 Alcayaga, J., R172  
 Alda, L., R172  
 Aldunate, J., R144, R189  
 Aljaro, M.E., R258  
 Allende, J.E., R185  
 Allende, M., R213  
 Allende, C., R151, R173  
 Allende, M.A., R173  
 Allende, M.C., R173  
 Almonacid, E., R172  
 Alvarez, J., R199  
 Alvarez, O., R172  
 Alvarez, P., R173  
 Alvear, M., R174  
 Amigo, M., R174  
 Amthauer, N., R233  
 Amthauer, R., R174  
 Angelo, S., R174  
 Antonelli, M., R259  
 Apt, W., R217  
 Arancibia, A., R226  
 Aranda, M., R173  
 Araneda, R., R175  
 Araya, C., R221  
 Araya, N., R252  
 Arce, J.P., R175  
 Arenas, C.P., R151  
 Arenas, G., R175  
 Arévalo, C., R205  
 Argandoña, V.H., R175  
 Arias, J.L., R149  
 Armanet, L., R188  
 Armesto, J.J., R146, R166, R256  
 Arqueros, L., R211  
 Arraztoa, J.A., R220  
 Arriagada, E., R176  
 Arriagada, J.R., R176  
 Arriagada, R., R254  
 Arroyo, M.T., R146, R176  
 Asencio, H., R232  
 Astete, G., R233  
 Astudillo, J., R204  
 Atías, A., R144, R144  
 Atwater, I., R214  
 Auba, M., R222  
 Avendaño, C., R176  
 Avila, G., R258  
 Ayal, H., R257  
 Báez, C., R177  
 Balboa, O., R175  
 Barahona, C., R150  
 Barahona, J., R211  
 Barahona, P., R230  
 Bardin, W.C., R229  
 Bardisa, L., R189  
 Barnier, R., R236  
 Barontini, M., R244  
 Barra, R., R177  
 Barrientos, U., R177  
 Barriga, C., R177  
 Barros, C., R148, R236  
 Barros, L., R178  
 Barros, T., R242  
 Barth, C., R193  
 Bastías, J.M., R178  
 Bazaes, S., R258  
 Be, C., R178  
 Beachy, R.N., R197  
 Becerra, M.A., R181  
 Becker, M.I., R183

- Behn, C., R223  
 Behrens, M.I., R178  
 Bellolio, G., R179  
 Belmar, J., R161, R179  
 Belmar, M., R213  
 Belmonte, E., R191  
 Benavente, C., R241  
 Berthoud, V., R191  
 Bezanilla, F., R178  
 Bidart, J., R179  
 Biogini, L., R203  
 Blanco, L.P., R179  
 Blaquier, J.A., R148  
 Bonilla, S., R223  
 Borić, M., R180  
 Bournas, C., R224  
 Bozinović, F., R180  
 Bravo, C., R180  
 Bravo, H., R163, R221  
 Bravo, I., R202  
 Bravo, L., R180  
 Britto, M., R181  
 Brncić, D., R181  
 Bronfman, M., R153  
 Brown, D., R181  
 Bruzzone, M.E., R181  
 Budnik, M., R182  
 Bull, P., R206  
 Bull, R., R182, R211  
 Bunster, M., R182  
 Burgos, M.H., R148  
 Burzio, L., R200  
 Bustamante, D., R182  
 Bustamante, M., R183  
 Bustos, A., R183  
 Bustos, G., R160  
 Bustos-Obregón, E., R148  
  
 Cabello, J., R172  
 Cabrera, M., R219  
 Cabrera, R., R206, R212  
 Cabrera, S., R190  
 Cáceres, B., R247  
 Cáceres, T., R217  
 Cachicas, V., R183  
 Caire, Y., R183  
 Calderón, I., R186  
 Cambiazo, V., R184  
 Campos, E., R184  
 Campos, G., R231  
 Campos, M., R184  
 Campos, R., R205  
  
 Campos, S., R189  
 Campos, V., R231  
 Camposano, S., R198  
 Campusano, C., R215  
 Canales, M., R144  
 Cancino, J.M., R146, R228  
 Candia, S., R236  
 Cañas, P.E., R184  
 Capdevila, J., R232  
 Capdeville, A., R198  
 Capetillo, J., R229  
 Cardemil, E., R174  
 Cardemil, L., R208  
 Cárdenas, H., R239, R241  
 Cardinali, D., R244  
 Carmona, C., R205  
 Carmona, M.T., R151, R185  
 Carrasco, A., R185  
 Carrasco, D., R185  
 Carrasco, M.A., R153, R154, R185  
 Carrera, P., R245  
 Carrillo, O., R182  
 Carvajal, N., R186  
 Casanova, D., R195  
 Castilla, J.C., R146  
 Castillo, A., R186  
 Castillo, G., R186  
 Castillo, H., R214  
 Castro, M.E., R186  
 Catalán, J., R172  
 Cauvi, D., R224  
 Cavicchia, J.C., R187, R232  
 Caviedes, R., R170  
 Cea, C.G., R204  
 Cecchi, X., R202  
 Celedón, C., R184  
 Celedón, G., R246  
 Cepeda, J.G., R187  
 Chabouty, H., R187  
 Chávez, J., R226  
 Chávez, M., R181  
 Cheng, Y., R229  
 Chiang, L., R233  
 Chiang, M.T., R233  
 Chiong, M., R187  
 Cid, H., R178  
 Cifuentes, F., R188  
 Cifuentes, L., R188  
 Cisternas, E., R188  
 Cisternas, R.E., R188  
 Claps, A., R189  
 Clements, J.A., R162  
 Cofré, G., R189

- Coloma, L., R144  
 Coloma-Sanhueza, L., R189  
 Colombo, M., R242  
 Comte, S., R190  
 Concha, I., R190  
 Concha, J., R160, R206  
 Concha, M., R174  
 Concha, M.C., R209  
 Conde, E., R244  
 Connelly, C.C., R153, R252  
 Contreras, D., R247  
 Contreras, E., R170  
 Contreras, L.C., R190  
 Contreras, M., R190  
 Coronado, M., R191  
 Corrales, R., R162  
 Correa, A., R244  
 Correa, R., R203  
 Cortés, A., R191  
 Cortés, M., R191  
 Corthorn, J., R191  
 Cotta-Pereira, G., R149  
 Cross, D., R160, R192  
 Croxatto, H.B., R229  
 Cruz, F., R192  
 Cruz, M.A., R232  
 Cruz, N., R229  
 Cruz-Coke, R., R188  
 Curotto, E., R199  
 Cury, M., R192
- Dabiké, M., R168, R213  
 Daher, V., R192  
 De Geyter, A., R253  
 De Ioannes, A., R218  
 De Marinis, A., R233  
 De Souza, W., R219  
 De la Cerda, S., R259  
 de la Fuente, G., R158  
 de la Sotta, R., R222  
 De la Torre, C., R151  
 Defilippi, C., R174  
 Del Pino, F., R177  
 Del Pozo, R., R193  
 del Solar, E., R245  
 del Valle, R., R193  
 Del Villar, E., R193  
 Delgado, R., R193  
 Denduchis, B., R149  
 Depix, M.S., R194  
 Derpich, J., R175  
 Devés, R., R194
- DiSalvo, L.H., R157  
 Díaz de la Vega, J., R194  
 Díaz, A., R194  
 Díaz, F., R179  
 Díaz, H., R151, R173, R205  
 Díaz, N.F., R222  
 Díaz-Véliz, G., R161, R195  
 Dobos, P., R250  
 Doepking, W., R239  
 Domenech, R., R255  
 Domínguez, P., R195  
 Donoso, C., R191  
 Donoso, E., R195  
 Donoso, J., R242  
 Donoso, P., R195  
 Droguett, G., R196  
 Dupré, E., R196  
 Durán, W., R180
- Echeverría, E., R196  
 Egaña, E., R197  
 Eggenberger, A., L., R197  
 Einersen, M., R225  
 Eisele, G., R196  
 Elgueta, D., R197  
 Ellahueñe, M., R236  
 Enríquez, S., R238  
 Erazo, S., R231  
 Escorza, E., R197  
 Espejo, E., R197  
 Espinoza, A., R222  
 Espinoza, G., A., R209  
 Espinoza, M., R237  
 Espinoza, M.A., R252  
 Esquivel, P., R207  
 Estay, A., R198  
 Etcheberrigaray, R., R198  
 Eugenin, J., R198  
 Eyzaguirre, J., R236
- Fadić, R., R198, R211  
 Farese, R., R153, R201  
 Farías, G., R198  
 Faúndez, V., R199  
 Fedele, F., R199  
 Fernández, E., R240, R243  
 Fernández, G., R213  
 Fernández, J., R167, R230  
 Fernández, J., R196  
 Fernández, M., R150  
 Fernández, M.S., R199  
 Fernández, V., R152, R199

- Fernández-Goñi, A., R248  
 Ferreira, A., R144, R200, R200  
 Ferreira, J., R152  
 Ferrer, L., R175  
 Ferruz, J., R244  
 Figueroa, G., R186  
 Figueroa, H., R200, R215  
 Figueroa, J., R200  
 Fischer, M., R196  
 Flores, E., R201, R210  
 Folch, H., R207  
 Forcelledo, M.L., R225  
 Forray, M., I., R179  
 Fóscolo, M., R206  
 Foster, R., R153, R154, R201  
 Frenkel, C., R233  
 Frías, D., R201  
 Fuentes, H.R., R201  
 Fuentes, M.E., R202, R211  
 Fuentes, O., R202  
 Fuentes, O.R., R202  
 Fuenzalida, M., R216  
 Fuenzalida, S., R259
- Gaete, V., R202  
 Gai, M.N., R238  
 Gajardo, G., R203  
 Galanti, N., R145  
 Galdames, D., R203  
 Gallardo, F., R158, R203  
 Gallardo, M.H., R241  
 Gallardo, R., R203  
 Galleguillos, R., R165  
 Galleguillos, X., R204  
 Gamboa, M., R204  
 Gamboa, S., R224  
 Garcés, E., R212  
 García, R.M., R204  
 García-Quintana, H.G., R204  
 Garrido, A., R205  
 Garrido, C., R252  
 Garrido, J., R168, R206  
 Gatica, M., R205  
 Gaudi, G., R180  
 Gaule, C., R193  
 Gavia, A., R235  
 Gavilán, J.F., R172  
 Gazitúa, S., R205  
 George-Nascimento, M., R147  
 Germany, A., R158, R205  
 Gil, L., R232  
 Giménez Abián, J.F., R151
- Giménez Abián, M.I., R151  
 Giménez-Martín, G., R151  
 Glisser, E., R192  
 Godoy, A., R220  
 Godoy, J., R236  
 Godoy, R., R177  
 Gómez, M., R201  
 Gómez-Silva, B., R200  
 González Plaza, R., R177  
 González, A., R168, R206  
 González, A., R206  
 González, B., R206  
 González, C., R206, R208  
 González, E., R177  
 González, F., R219  
 González, F.F., R207  
 González, G., R199  
 González, H., R184  
 González, I., R207  
 González, J., R205  
 González, K., R191  
 González, L., R196  
 González, L.A., R207  
 González, M., R207, R227  
 González, M.J., R151, R173  
 González, R., R184  
 Gorgollón, P., R196  
 Goycoolea, C., R208  
 Grandjean, J.P., R208  
 Grez, P., R197  
 Grinbergs, J., R208  
 Guadagno, H., R220  
 Guadarrama, A., R243  
 Guajardo, G., R209  
 Guajardo, J., R221  
 Guarda, M.I., R230  
 Guerra, R., R205  
 Guerrero, C., R178  
 Guerrero, S., R208  
 Guic-Robles, E., R163, R209  
 Guíñez, R., R165  
 Guivernau, M., R158  
 Gunther, B., R159  
 Gutiérrez, C., R238  
 Gutiérrez, E., R190  
 Gutiérrez, J., R221  
 Gutiérrez, J.R., R166, R226  
 Gutiérrez, M., R186, R233  
 Gutiérrez, O., R163  
 Gutiérrez, S.S., R226  
 Guzmán, F., R192  
 Guzmán, L., R243  
 Guzmán, R., R242

- Gysling, K., R160
- Hajak, E.R., R209
- Harbst, H., R229
- Hauenstein, E., R247
- Henriquez, M., R187
- Henriquez, O., R249
- Hermosilla, G., R209
- Hermosilla, I., R209
- Hernández, D., R200
- Hernández, F., R253
- Hernández, P., R252
- Herrera, C., R254
- Herrera, E., R256
- Herrera, L., R210
- Hevia, E., R196
- Heyn, R., R210
- Hidalgo, C., R153, R211, R247
- Hidalgo, M., R258
- Hidalgo, M.E., R240
- Hidalgo, P., R153, R179
- Hinrichsen, P., R210
- Hinrichsen, V., R186
- Hoenersen, M., R239
- Hoffmann, A.J., R210
- Holmgren, J., R242
- Holuigue, L., R210
- Hoppe, A., R211
- Horvat, A., R219
- Howard, M., R240
- Hubert, E., R242
- Huidobro-Toro, J.P., R224
- Ibáñez, I., R254
- Illanes, J.E., R156, R156
- Imarai, M., R218
- Imchenetzky, M., R188
- Inestrosa, N.C., R149, R160, R184, R192, R198, R202, R211
- Infante, C., R215
- Inostroza, D., R188
- Inzunza, O., R211
- Iribarra, V., R182, R211
- Isac, M.D., R212
- Iturri, S., R251
- Iturriaga, R., R212
- Izquierdo, L., R167, R199
- Jabalquinto, A.M., R212
- Jacob, G., R185
- Jaimovich, E., R153, R211, R230
- Jaksić, F., R147, R166, R219, R221
- Jara, C., R224
- Jarpa, E.G., R240
- Jarpa, S., R197
- Jeffery, W., R167
- Jerez, D., R212
- Jiménez, H., R176
- Jofré, C., R227
- Jofré, V., R235
- Johnston, M., R213
- Jordán, M., R213
- Juica, F., R206
- Kaltwasser, G., R160, R203
- Kawada, M.E., R194
- Kessi, E., R186
- Kettlun, A.M., R217
- Kipreos, K., R199
- Kiwi, I., R223
- Klempau, A., R183
- Koenig, C., R168, R213
- Krauskopf, M., R255
- Krauss, R., R213
- Kriz, A., R214
- Krupke, R.M., R194
- Kuhn, W., R248
- Kukuljan, M., R214
- Kusanović, R., R195
- Kuznar, J., R198
- Labarca, P., R193
- Lafuente-Indo, N., R236
- Lagos, R., R250
- Lamborot, M., R214
- Landa, A., R249
- Landero, A., R176
- Lara, G., R214
- Lara, H., R244
- Lara, M., R253
- Larraín, C., R198
- Larralde, L., R211
- Lathrop, M.E., R175
- Latorre, R., R215
- Laurido, C., R215
- Lavandero, S., R144, R215
- Lay-Son, L., R227
- Lazo, B., R215
- Lazo, O., R189
- Leighton, F., R193
- Leiva, H., R198
- Leiva, J., R215

- Leiva, R., R216  
 Leiva, S., R204  
 Lemus, D., R216  
 León, E.M., R181  
 León, G., R255  
 León, O., R179  
 León, P.M., R216  
 Leontić, E., R256  
 Letelier, M.E., R144, R223  
 Leyton, C., R151, R216  
 Leyton, M., R217  
 Ligueros, M., R217  
 Lipchenca, I., R223  
 Lissi, E.A., R152, R217  
 Llaguno, S., R184  
 Llanos, A., R234, R249, R255  
 Llanos, J.A., R237  
 Llanos, M., R242  
 Llop, E., R217  
 Lobo, M.V., R218  
 Lobo, R., R203  
 Lobos, A., R241  
 Lobos, C., R220  
 Lobos, J.C., R172  
 Lohrmann, K., R179  
 Lolas, F., R198  
 López, C., R218  
 López, J., R218  
 López, L., R248  
 López, L.F., R218  
 López, M.L., R219  
 López-Solís, R.O., R151, R173  
 Lorca, M., R144  
 Loyola, G., R153  
 Ludwig, H., R242  
 Luna, L., R256  
 Lustig, L., R149  
 Lutz, M., R207  
 Luxoro, M., R154  
 Lyng, C., R188  
  
 Macho, P., R255  
 Magaña, A., R238  
 Malbrán, M.E., R210  
 Maldonado, C., R230  
 Maldonado, M., R237  
 Mancilla, J., R219  
 Mancilla, M., R218  
 Mancinelli, S., R158, R254  
 Manríquez, V., R226  
 Marchant, J., R158  
 Marengo, J.J., R182  
  
 Marquet, P.A., R219  
 Marshall, S., R219  
 Martí, M.C., R194  
 Martín, N., R158, R221  
 Martinetti, A., R203  
 Martínez, J.A., R220, R220  
 Martínez, M.I., R220  
 Martínez, R., R220  
 Martinich, S., R221  
 Marusić, E.T., R154, R228  
 Mascetti, G.G., R163  
 Massone, R., R226  
 Matte, C., R230  
 Maulén, J., R221  
 Maya, H., R229  
 Medel, R., R166, R221  
 Medina, J.L., R222  
 Mella, J., R222  
 Mergudich, D., R151  
 Merino, J.A., R175  
 Merino, V., R226  
 Meruane, J., R156  
 Mery, C., R222  
 Mettifogo, S., R222  
 Meza-Basso, L., R234  
 Michea, L., R228  
 Minguell, J.J., R150  
 Miquel, A., R223  
 Miranda, P., R176  
 Mittal, B., R143  
 Monasterio, O., R259  
 Moncada, C., R223  
 Mondaca, C., R144  
 Moneva, Ch., R234  
 Monichi, E., R200  
 Montalar, Y., R223  
 Montecino, V., R223  
 Montecinos, M., R224  
 Montecinos, R., R221  
 Montenegro, G., R248  
 Montenegro, M.A., R224  
 Montesino, H., R232  
 Monteverde, P., R223  
 Montiel, J., R224  
 Montoya, G.A., R224  
 Montoya, R., R187  
 Mora, G., R241  
 Mora, G.C., R186  
 Mora, S., R161, R225  
 Mora, W., R225  
 Morales, B., R225, R228  
 Morales, I., R186  
 Morales, M., R145, R208

- Morales, M.N., R153  
Morales, P., R203  
Morales, Y., R233  
Morán, F.M., R225  
Morán, S., R184  
Morasso, L., R226  
Morello, A., R144  
Moreno, M., R159, R226  
Moreno, R., R162  
Moreno, R.J., R171, R226  
Morín, V., R226  
Mosnaim, A.D., R239  
Motles, E., R227  
Moya, L., R248  
Moyano, H., R245  
Mujica, A.M., R201  
Munizaga, A., R213  
Muñoz, A., R227  
Muñoz, C., R227  
Muñoz, E., R207  
Muñoz, G., R219, R227  
Muñoz, L., R231  
Muñoz, M.R., R228  
Muñoz, P., R144  
Muñoz, S., R228  
Murúa, R., R227  
Musalem, M., R222
- Naranjo, D., R228  
Naretto, E., R220, R228  
Nassar, V., R154  
Navarrete, E., R198  
Nazer, J., R192  
Necochea, C., R193  
Neira, F., R252  
Neira, S., R229  
Nervi, F., R243  
Neumann, V., R229  
Noé, G., R229  
Norris, B., R233  
Northland, I., R229  
Novoa, E., R175  
Novoa, F., R230  
Noziglia, C., R243  
Núñez, M.T., R202
- O'Reilly, S., R231  
Oberhauser, A., R211  
Oberhauser, E., R153, R154, R253  
Oberti, C., R197  
Oehlschlager, A.C., R171
- Ojeda, F., R230  
Olea, N., R230  
Olguín, J., R231  
Olivares, A., R213  
Olivares, E., R230  
Olivares, H., R231  
Olivares, M., R184  
Ordenes, G.E., R151, R231  
Orellana, A., R153  
Orellana, I., R205  
Orellana, M., R232  
Orellana, O., R246  
Orrego, E., R256  
Ortega, J., R209  
Ortiz, H.E., R187, R232  
Ortiz, J.C., R219, R232  
Ortiz, M.E., R243  
Oyarzún, M.J., R162, R175  
Padilla, L., R232  
Paeile, C., R182  
Palacios, S., R233  
Paladines, P., R228  
Palestini, M., R233  
Palma, R., R254  
Palma-Rojas, C., R233  
Palomino, H., R224  
Palomino, M., R257  
Pantoja, C., R233  
Parada, S., R234  
Pardo, J., R190, R234  
Parra, C., R234  
Parraguez, V., R234, R249, R255  
Passig, C., R220  
Pastenes, J., R235  
Pavani, M., R239  
Paz de la Vega, Y., R235  
Pelissier, T., R235  
Pellet, P., R232  
Penna, C., L., R229  
Penna, M., R143, R217  
Peña, S., R203  
Pereda, J., R235  
Pereira, L., R156  
Pereyra, E., R222  
Pérez, A., R236  
Pérez, C., R236, R236  
Pérez, F., R191  
Pérez, F.E., R185  
Pérez, G., R237  
Pérez, H., R234, R237  
Pérez, L.M., R222  
Pérez, R., R237  
Pérez-Alzola, L.P., R236

- Pérez-Olea, J., R239  
 Persico, R., R237  
 Pessot, C., R238  
 Petrizzio, L., R256  
 Pezo, P., R224  
 Pezoa, R., R238  
 Pichuantes, S., R189  
 Pielemier, J., R214  
 Pimentel, C., R188  
 Pinardi, J., R257  
 Pinto, N., R158  
 Pinto-Hamuy, T., R220  
 Pizarro, G., R223  
 Pizarro, J., R238  
 Pizarro, M., R237  
 Pizarro, O., R259  
 Pizzi, T., R222  
 Plaza, R., R172  
 Polette, M., R204  
 Pollard, H.B., R155  
 Ponce, O., R238  
 Portilla, J., R235  
 Pozo, J., R235  
 Prella, A., R177  
 Prieto, A., R211  
 Prieto, J.C., R239  
 Puchi, M., R224  
 Puente, J., R239
- Quaas, A., R239  
 Quevedo, I., R225  
 Quevedo, L., R239  
 Quevedo, M., R239  
 Quezada, A.E., R240  
 Quilhot, W., R240  
 Quintanilla, M.E., R240  
 Quiroz, E., R231  
 Quiroz, G., R214
- Ramírez, B.U., R240  
 Ramírez, C., R208  
 Ramírez, I., R242  
 Rayman, R., R234  
 Recabarren, S.E., R241  
 Reinicke, K., R241  
 Reises, D., R241  
 Rentería, S., R231  
 Repetto, G., R241  
 Repetto, Y., R144, R223  
 Reyes, A., R242  
 Reyes, E., R242
- Reyes, J., R242  
 Reyes, V., R144, R144  
 Reynafarje, B., R152  
 Rich, N.C., R243  
 Riffo, M., R242  
 Rigotti, A., R243  
 Ríos, C., R243  
 Ríos, D., R172  
 Ríos, S., R224  
 Riquelme, R., R234, R237  
 Riveros, O., R189  
 Roblero, J., R236  
 Roblero, J.P., R224  
 Roblero, L., R243  
 Robles, L., R243  
 Rocco, S., R245  
 Rocha, A., R245  
 Roco, M., R224  
 Rodríguez Echandía, E., R206  
 Rodríguez, J., R200  
 Rodríguez, M., R200  
 Rodríguez, P., R244  
 Rojas, A., R179  
 Rojas, A.M., R253  
 Rojas, C., R153  
 Rojas, E., R154, R155, R197  
 Rojas, M.A., R210  
 Rojas, V., R145  
 Rojo, D., R244  
 Román, E., R181  
 Romeo, H., R244  
 Romero, A., R235  
 Romero, H., R248  
 Romero, J.C., R231  
 Romero, M., R196  
 Romero, S., R216  
 Roncagliolo, M., R245  
 Rose, C., R216  
 Rose, M., R254  
 Rosello, E., R191  
 Rosenblatt, M., R237  
 Rosenblut, G., R253  
 Rosenmann, M., R230, R250  
 Rosenstein, R., R244  
 Rothhammer, F., R217  
 Rozzi, R., R146, R146, R244  
 Rubilar, A., R245  
 Rudolph, M.I., R232  
 Ruggero, M.A., R243  
 Ruiz, D.G., R245  
 Ruiz, G., R245  
 Ruiz, M., R227  
 Ruiz, S., R237

- Ruttimann, C., R206
- Saavedra, A., R217  
Saavedra, C.P., R245  
Saavedra, H., R227, R235  
Saavedra, I., R203  
Saavedra, M.M., R186  
Saenger, V., R186  
Sáez, J., R234  
Sáez, L., R246  
Saitúa, F., R246  
Saiz, F., R246  
Salas, C., R180  
Salas, E., R231  
Salas, K., R170  
Salas, L., R258  
Salazar, O., R246  
Salgado, M., R235  
Salinas, D., R199  
San Martín, C., R208  
San Martín, J., R247  
Sánchez, E., R193  
Sánchez, G., R257  
Sánchez, H., R247  
Sánchez, L., R171  
Sánchez, M., R248  
Sánchez, R., R183  
Sánchez, X., R247  
Sandino, A., R247  
Sanger, J.M., R143  
Sanger, J.W., R143  
Sans, J., R151, R216  
Santelices, B., R147  
Santibáñez, I., R248  
Santos, M., R151, R231  
Sapag, A., R206  
Sapag-Hagar, M., R154, R194, R215  
Schatten, G., R167  
Schatten, H., R167  
Schuck, M., R248  
Schuller, P., R248  
Seelenfreund, D., R248  
Selman, R., R229  
Sepúlveda, M.S., R171  
Serón-Ferré, M., R234, R249, R255  
Sierralta, F., R170  
Sierralta, J., R160  
Silman, I., R211  
Silva, A., R156  
Silva, H., R249  
Silva, M., R239, R254  
Silva, P., R154, R249
- Silva, R., R191  
Simonetti, J.A., R166  
Slebe, J.C., R244  
Smith, C., R183  
Smith, R.L., R211  
Sobrevía, L., R249  
Solarí, A., R255  
Soler, M., R250  
Solís, R., R250  
Solveyra, C., R244  
Soto, C., R250  
Soto, D., R250  
Soto, J., R251  
Soto, R., R251  
Soto, U., R193  
Soto, V., R195  
Sotomayor, P., R227  
Soza, M.A., R184  
Soza, X., R183  
Spencer, E., R238, R247  
Spotorno, A., R251  
Squeo, F.A., R146, R251  
Stark, D.M., R197  
Stuardo, C., R192  
Stuardo, J., R251  
Stutzin, A., R155  
Suárez, B., R155, R188, R211  
Suwalsky, M., R252  
Szecowka, J., R161
- Tager, M., R183  
Tamayo, L., R174  
Tampier, L., R252  
Tapia, G., R259  
Tapia, J., R252  
Tascón, S., R252  
Tassara, R., R144  
Taylor, A., R252  
Tchernitchin, A.N., R254  
Tetas, M., R150  
Tevah, J., R255  
Thielemann, L., R153, R154, R253  
Tomassovich, M., R170  
Toro, G.C., R145  
Torrealba, F., R164, R189  
Torrejón, G.A., R240  
Torres, A., R165  
Torres, J., R235  
Torres-Murúa, J.C., R190  
Traverso-Corí, A., R217  
Tremblay, C., R213

- Ulloa, N., R243  
Unda, C., R254  
Uribe, E., R245  
Urrutia, C., R214, R252
- Vacas, M., R244  
Vaccarezza, I., R207  
Valdebenito, I., R254  
Valdés, F., R253  
Valdez, E., R253, R256  
Valdivieso, C., R209  
Valdovinos, C., R251  
Valenzuela, A., R205  
Valenzuela, C.Y., R253  
Valenzuela, E., R204  
Valenzuela, M.A., R218  
Valle, I., R194  
Van Rysselberghe, J., R221  
Vargas, L., R194  
Vargas, M., R221  
Vargas, R., R221  
Vargas, V., R182  
Vásquez, C., R187  
Vásquez, H., R253  
Vásquez, J., R254  
Vásquez, M.V., R254  
Vásquez, X., R189  
Vega, P., R193  
Vega, R., R254  
Velásquez, L., R254  
Veloso, C., R180  
Venegas, A., R196  
Venegas, J., R255  
Venegas, P., R255  
Venegas, V., R209  
Venegas, W., R209  
Vera, M., R246  
Vera, M.I., R255  
Vera, M.L., R231  
Vergara, M., R234, R249, R255  
Vergara, T., R221  
Vergara, U., R259  
Vergara, V., R256  
Vesperinas, G., R234  
Vial, J., R168  
Vicencio, C., R228
- Vicuña, R., R248  
Videla, L., R217  
Videla, L.A., R152  
Vidiella, P., R256  
Vigil, P., R256  
Vila, I., R190  
Villagrán, C., R257  
Villalobos, M., R235  
Villanueva, J., R174  
Villanueva, S., R256  
Villar, M., R205  
Villaseñor, R., R246  
Villegas, J., R190  
Villena, F., R224, R232  
Vinet, R., R257  
Vivaldi, E., R159, R226  
Vollrath, V., R252  
von Bernhardt, R., R257  
von Chrismar, A., R190
- Wallace, A., R257  
Ward, P.H., R159, R226  
White, A., R220  
Whitford, W.G., R187  
Wilkins, M., R258  
Wolf, M., R239  
Wolff, D., R215  
Wolff, M., R258
- Yates, L., R258  
Youlton, R., R192  
Yudelevich, A., R186
- Zaldívar, M., R222  
Zamorano, B., R234  
Zamorano, M., R222  
Zapata, P., R162, R172, R198, R212  
Zegers-H, F., R243  
Zemelman, R., R187  
Zepeda, M., R229  
Zepeda, S., R258  
Zolezzi, C., R190  
Zúñiga, C., R259  
Zúñiga, G.E., R175

# Copies of articles from this publication are now available from the UMI Article Clearinghouse.

For more information  
about the Clearinghouse,  
please fill out and mail back  
the coupon below.

**UMI** Article  
Clearinghouse

Yes! I would like to know more about UMI  
Article Clearinghouse. I am interested in  
electronic ordering through the following  
system(s):

- DIALOG/Dialorder  ITT Dialcom  
 OnType  OCLC ILL  
Subsystem

- Other (please specify) \_\_\_\_\_  
 I am interested in sending my order by  
mail.  
 Please send me your current catalog and  
user instructions for the system(s) I  
checked above.

Name \_\_\_\_\_

Title \_\_\_\_\_

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

Department \_\_\_\_\_

Address \_\_\_\_\_

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

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

Mail to: University Microfilms International  
300 North Zeeb Road, Box 91 Ann Arbor, MI 48106

