

## XVIII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE

Noviembre 27, 28, 29 de 1975

Termas de Jahuel — Chile

### RESUMENES DE SIMPOSIOS

#### I.— ASPECTOS CITOFISIOLOGICOS DE LA REPRODUCCION Y DESARROLLO TEMPRANO EN MAMIFEROS

##### 1. Histofisiología testicular: el tejido peritubular.

BUSTOS-OBREGON, E.— Unidad de Biología Celular, Departamento de Biología Celular y Genética, Universidad de Chile, Sede Norte.

El tejido peritubular comprende un conjunto de células y material intercelular organizado junto a la membrana basal del epitelio seminífero y que envuelve al túbulo. Los patrones de organización estructural de este tejido varían según la especie y su estudio comparativo resulta de interés para analizar la motilidad tubular y el transporte de sustancias hacia el túbulo.

Las células peritubulares son contráctiles y se estima que correspondan a miofibroblastos. Su ultraestructura recuerda la del músculo liso y la plena diferenciación filamentosa del citoplasma es dependiente de estimulación androgénica.

Pese a su alto grado de diferenciación, las células peritubulares del adulto retienen capacidades sintéticas propias de las células conjuntivas, de las cuales derivan en el período fetal. Entre otros productos presentes en el material intercelular, ellas sintetizan colágeno y, presumiblemente, polisacáridos de la matriz intercelular.

En algunas especies estas células presentan uniones estrechas con tal frecuencia que sólo una pequeña fracción de la superficie tubular está efectivamente en contacto directo con sustancias llegadas por el torrente circulatorio. Sin embargo, el sitio efectivo de la así llamada "barrera hemato-testicular" radica en las uniones estrechas entre las células de Sertoli. Se delimitan así dos compartimentos en el epitelio germinal, uno *basal*, en directo contacto con la membrana basal y poblado por espermatogonias y espermatoцитos al inicio de la meiosis (es decir, un compartimento proliferativo), y otro *adluminal*, correspondiente al final de meiosis y evolución de las espermátidas (especialización y diferenciación celulares), cuyo nexa con la membrana basal lo constituyen las células de Sertoli. Aparece evidente que éstas juegan efectivamente el rol de intermediario "bridge cell" metabólico que ha sido propuesto en base a criterios morfológicos y funcionales, y que esta compartimentalización del epitelio germinal puede constituir la base anatómica para la creación de un microambiente que asegure la compleja evolución de las células germinales.

Experimentos críticos diseñados para visualizar el tránsito de macromoléculas biológicamente importantes (p. ej., gonadotrofinas) a través de los elementos de la barrera hemato-testicular (tejido

peritubular, células de Sertoli), parecen necesarios para una mejor interpretación funcional de las observaciones ultraestructurales, empleando trazadores electrón-opacos.

La definición de la cinética celular y de la actividad sintética (p. ej., por método radioautográfico) de las células peritubulares, áreas ambas muy poco conocidas en la actualidad, pueden esclarecer las relaciones entre fibroblasto y miofibroblasto, a la vez que aportar datos para la comprensión de la diferenciación normal y patológica del tejido peritubular.

##### 2. Control de la ovogénesis y de la unidad folículo-huevo en mamíferos.

ARRAU, J.— Laboratorio de Embriología, Departamento de Fisiología-Embriología, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile.

En las hembras de mamíferos, el ciclo completo de la ovogénesis termina en la ovulación, es decir, la salida del ovocito del ovario. El ovocito es ovulado después de haber eliminado el primer polo-cito, cuando se ha completado la primera división de maduración.

La ovogénesis no es un proceso continuo como la espermatogénesis. La primera división meiótica del ovocito empieza en el ovario embrionario y alcanza sólo hasta el estado de diploteno, en el cual se detiene. Este proceso se reanuda después de semanas, meses o años (dependiendo de la especie), sólo unas pocas horas antes de la ovulación. Este estado de reposo o intervalo entre el diploteno y la diacinesis se denomina estado de dictioteno o "dictyate state". Su núcleo toma un aspecto especial denominado "vesícula germinativa". En términos de morfología ovárica, toda la ovogénesis se manifiesta como multiplicación ovogonial, formación de ovocitos y folículos primordiales, foliculogénesis y crecimiento ovocitario, maduración del ovocito y ovulación.

En el ovario embrionario, sólo las ovogonias que se rodean de "células foliculares" pueden continuar su evolución; estas células provienen del estroma y de la "rete ovari". Las relaciones con estas células se mantienen intactas hasta sólo algunas horas antes de la ovulación.

En base a múltiples pruebas experimentales, en la actualidad no se puede considerar al ovocito separado del folículo que lo contiene. El complejo "ovocito-folículo" funciona como una unidad. Normal y fisiológicamente, la meiosis se reanuda bajo la influencia de las gonadotrofinas hipofisarias, descargadas ya sea espontáneamente al principio del estro o por el estímulo de la cópula. Sin embargo, la reanudación de la meiosis, hasta la for-

mación del 2º huso de maduración, se produce igualmente bajo dos circunstancias: 1. en la atresia folicular, que ocurre después de la hipofisectomía, y 2. en los ovocitos separados del folículo, cultivados *in vitro*. Al cultivar *in vitro* un folículo con su ovocito, este último mantiene su núcleo al estado de vesícula germinativa. Recientemente, ha sido posible demostrar que si al medio de cultivo se le agrega  $10^7$  células de la granulosa —obtenidas de éste o de otros folículos—, o bien, líquido folicular, se inhibe la ruptura de la vesícula germinativa.

En la rata, la maduración de los ovocitos en sus folículos puede ser inducida agregando al medio de cultivo o inyectando en la cavidad folicular LH, FSH, Prostaglandina  $E_2$  o c-AMP.

Por otro lado, hay evidencias experimentales de que las células aisladas de la granulosa se luteinizan espontáneamente cuando son cultivadas *in vitro*. Lo mismo se observa cuando se cultivan trozos de pared folicular o al extraer el ovocito del folículo (ovectomía).

Sobre esta base podemos concluir que: 1. las células de la granulosa estarían produciendo una(s) sustancia(s) química(s) de naturaleza aún desconocida, la cual se liberaría al líquido folicular y actuaría sobre el ovocito, impidiendo la ruptura de la vesícula germinativa. 2. El ovocito estaría produciendo un (os) factor (es) que, de algún modo, actuaría sobre la capa de células granulósicas de la pared folicular, manteniendo su integridad e impidiendo su luteinización. Por lo tanto, el ovocito estaría jugando el rol de estructura "luteostática".

### 3. La fecundación como un problema de fusión de membranas.

BARROS, C.— Laboratorio de Embriología, Departamento de Fisiología-Embriología, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile.

En mamíferos, la fecundación podría definirse como una secuencia muy precisa de cuatro fenómenos cuyo común denominador es la fusión de membranas.

En el primero de ellos, la membrana externa del casquete acrosómico se fusiona con la plasmática adyacente formando poros que permiten la salida de enzimas acrosómicas para facilitar el paso del espermio a través de las células del cúmulo oóforo y corona radiata. En el segundo, la membrana externa del segmento ecuatorial se fusiona con la plasmática, hecho que se ha interpretado como necesario para el paso del espermio a través de la zona pelúcida. Ambos fenómenos ocurren de tal modo que se asegura la continuidad de membrana alrededor del espermio. Esto es, en el primero, la membrana plasmática se continúa con la acrosómica externa, y, en el segundo, lo hace con la acrosómica interna.

En el tercer fenómeno, la membrana plasmática del oocito se fusiona con la plasmática espermática de la región post-acrosómica, etapa que es, sin lugar a dudas, la más importante, puesto que permite la formación del cigoto. Sin embargo, las membranas gaméticas que no se fusionarán a menos que se hayan producido los dos primeros fenómenos, y, en momentos muy precisos de la cronología de la fecundación.

El cuarto fenómeno es consecuencia del tercero, y consiste en la fusión de la membrana de los gránulos corticales con la plasmática ovular.

La fecundación, concebida entonces como una ordenada serie de fenómenos de fusión de membranas, se constituye en un caso particular de un fenómeno general y básico, facilitando así su comprensión y análisis.

La fusión implica que en la organización molecular de la membrana debe existir un cierto grado de fluidez que permita una alteración en la disposición macromolecular de las membranas. En el desencadenamiento de estos cambios se deben conjugar varios factores, tales como una separación máxima de  $10A^{\circ}$ , desplazamiento de iones Calcio y ATP, y establecimiento de puentes inter-membranas. Todos estos cambios pueden ocurrir como resultado de modificaciones en el medio en que se encuentra la célula, o bien, como consecuencia de cambios intracelulares.

En la fecundación, los fenómenos de fusión de membranas parecen estar asociados a variaciones del medio extracelular. Los cambios físico-químicos del medio ambiente espermático provocarían cambios en las enzimas acrosómicas, las que, a su vez, podrían inducir tanto la fusión de membranas en el acrosoma como la fusión de las membranas gaméticas.

Toda una serie de reacciones, que se iniciaría con la activación de ATPasas, tanto en la membrana plasmática como en la acrosómica externa, movilizaría calcio al interior del acrosoma. Como consecuencia, se activarían las proteinasas acrosómicas y/o fosfolipasas que, actuando sobre los fosfolípidos de las membranas, llevarían a una desestabilización que culminaría con el primer fenómeno de fusión, necesario para iniciar este complejo proceso.

### 4. Diferenciación antes de la implantación.

IZQUIERDO, L.— Sección de Biología Celular y del Desarrollo, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En el embrión de mamíferos, antes de la implantación, se ha realizado observaciones que interesan al análisis de la diferenciación celular.

Observaciones metabólicas. Hay síntesis de diversas clases de RNA desde el embrión de dos células, en ratón, con incremento importante en la mórula inicial. También entonces es máxima la incorporación de precursores de proteína por célula. La fosfatasa alcalina es la única enzima que "aparece" en el embrión preimplantacional; otras enzimas estudiadas presentan curvas características de actividad en función del estado o tiempo de desarrollo. Diversos inhibidores de transcripción y traducción detienen el desarrollo de embriones *in vitro*. Cultivando en medios artificiales, ha podido observarse que los requerimientos nutritivos se modifican durante el desarrollo preimplantacional.

Observaciones genéticas. Las manifestaciones bioquímicas de acción génica necesaria se confirman con los casos de mutantes letales. El más estudiado es el  $t^{12}/t^{12}$ , que interrumpe su desarrollo antes de diferenciarse el blastocisto. No se sabe cómo los genes  $t^{12}$  producen su efecto letal, pero se presume

que sea por la síntesis de algún componente de superficie celular, puesto que los anticuerpos anti-teratocarcinoma, que son activos contra la mórula y espermios normales, no lo son contra los portadores del gene  $t^{12}$ .

Observaciones citoquímicas. Coinciden con los cambios metabólicos citados y no señalan en forma indiscutible la diferenciación entre regiones del embrión, —excepto en el caso de fosfatasa alcalina.

Observaciones de regulación embrionaria. Blastómeros aislados del estado de dos células pueden generar un blastocisto y también puede obtenerse fusionando embriones, hasta el estado de mórula avanzada.

Diferenciación del blastocisto. La formación del blastocelo y diferenciación del trofoblasto puede explicarse por la posición central o periférica de los blastómeros en la mórula. Así se ha demostrado por recomposición de embriones y por diversos otros métodos. Pero además del factor especial se requiere un factor temporal, como podría ser el número de ciclos celulares, el agotamiento de alguna substancia, el crecimiento de la superficie celular u otros. La determinación del trofoblasto coincide con la aparición del blastocelo y con la observación, al microscopio electrónico, de uniones estrechas entre las células periféricas.

Se discute el problema de relaciones celulares que plantean las experiencias de regulación embrionaria y se proponen modelos que podrían dar cuenta de la diferenciación, como una consecuencia de modificaciones de membrana celular.

## II.— ETANOL.

### 5. Mecanismos de acción del etanol a nivel de neurotransmisores centrales.

BUSTOS O. G.— Departamento de Neurobiología, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile.

Observaciones de tipo indirecto sugieren que alguno de los efectos neurofarmacológicos del etanol se deben a una acción de esta droga sobre neuronas monoaminérgicas localizadas en el cerebro. Resulta, por lo tanto, interesante estudiar si alguno de estos efectos se explican por una acción del etanol sobre la síntesis y liberación de catecolaminas desde el terminal monoaminérgico.

Para este efecto, cortes de cuerpo estriado de rata se incubaron en un medio Krebs-Ringer-Fosfato (KRF) que contenía L-Tirosina —  $C^{14}$  (U) o L-Tirosina —  $\beta,5$  —  $H^3$ . La dopamina (DA) radiactiva recién sintetizada o la liberada en el medio se aislaron por cromatografía en columna.

El etanol (0.4% — 0.8% P/V) agregado directamente al KRF normal no altera la conversión de Tirosina —  $C^{14}$  en DA —  $C^{14}$ . La ausencia de  $Ca^{++}$  o la presencia de  $K^+$  (55 mM) en el KRF aumentan significativamente la formación de DA —  $C^{14}$  a partir de Tirosina —  $C^{14}$ . El etanol 0.2% — 0.8% P/V no altera el aumento de formación de DA —  $C^{14}$  inducido por la ausencia de  $Ca^{++}$ . Sin embargo, el etanol inhibe totalmente la estimulación de la síntesis de DA —  $C^{14}$  inducida por el ión  $K^+$ . Este efecto del etanol no parece ejercerse a través de

una inhibición del transporte de Tirosina —  $C^{14}$  al interior del terminal dopaminérgico.

La liberación de DA recién sintetizada desde cortes de cuerpo estriado se estudió usando un sistema de superfusión.

El etanol (0.4 — 0.8% P/V) agregado al medio de superfusión no modifica la liberación inducida por  $K^+$  (55 mM) de DA —  $H^3$  recién sintetizada. Se estudió entonces la actividad de la enzima tirosina hidroxilasa (TH) en cortes estriatales incubados previamente en un medio rico en  $K^+$ . La actividad TH se midió en el sobrenadante de 105,000xg resultante de la homogenización de los cortes. La presencia de  $K^+$  (55 mM) en el medio KRF aumenta significativamente la actividad de la TH estriatal. La activación de la enzima resulta al disminuir la  $K_m$  con respecto a los sustratos, tirosina y tetrahidropteridina (DMPH<sub>4</sub>), y al aumentar la  $K_i$  con respecto al producto inhibitorio, es decir, DA. El etanol no modifica la actividad TH de cortes incubados en KRF normal; sin embargo, el etanol inhibe totalmente la activación de la TH producida al incubar los cortes en un medio KRF rico en  $K^+$ . Este efecto del etanol se manifiesta aún a concentraciones tan bajas de 0.2% (P/V).

Resumiendo: se ha encontrado que la depolarización producida por  $K^+$  aumenta la síntesis del neurotransmisor en el terminal dopaminérgico y que esto posiblemente se debe a un cambio en las características cinéticas de la enzima limitante en la síntesis de DA, la TH; resultando una enzima activada con mayor afinidad por los sustratos, tirosina y DMPH<sub>4</sub>, y una menor afinidad por el producto inhibitorio normal, es decir DA. El etanol, agregado en concentraciones compatibles con una intoxicación moderada *in vivo*, inhibe específicamente esta activación. Se estudian actualmente las causas de este fenómeno como asimismo el rol que pueda jugar en la adquisición de tolerancia y dependencia física al etanol.

### 6. Influencia del propranolol en el tiempo de sueño inducido por etanol.

MUÑOZ C. y GUIVERNAU, M.— Departamento de Farmacología, Universidad de Chile, Sede Santiago Norte.

El dl-propranolol, bloqueador de receptores beta-adrenérgicos, inhibe "in vitro" las deshidrogenasas alcohólica y aldehídica, e "in vivo" interfiere en algunas acciones de fármacos depresores del sistema nervioso central. El isómero dextrógiro del propranolol carece de acción en los receptores beta-adrenérgicos, pero conserva las acciones metabólicas del dl-propranolol.

Se estudió el efecto del dl-propranolol en la duración del sueño inducido por inyección de etanol en ratones y se comparó con el efecto del d-propranolol. Se estudió, asimismo, el efecto del dl-propranolol en animales en que se inhibió la deshidrogenasa alcohólica con pirazol.

El dl-propranolol redujo significativamente la duración del sueño inducido por etanol, tanto en ratones normales de ambos sexos como en los previamente tratados con pirazol. En cambio, el d-pro-

pranolol no modificó el tiempo de sueño en esas condiciones experimentales.

En la interpretación de estos resultados se da cuenta de la concentración sanguínea de etanol en el momento de despertar y se analiza el rol de los receptores beta-adrenérgicos en los efectos del etanol en el sistema nervioso central.

#### 7. Influencia del etanol sobre la reactividad y la contractilidad cardíaca.

PENNA, M.— Departamento de Farmacología, Universidad de Chile, Sede Norte.

En corazón aislado de cobayo perfundido según la técnica de Langendorff con solución Tyrode desprovista de glucosa, presenta, sucesivamente, disminución de la frecuencia, prolongación de la conducción A-V, extrasístoles ventriculares, disociación A-V y finalmente fibrilación ventricular. Esta fibrilación ventricular se previene cuando la solución Tyrode contiene glucosa o se recupera a ritmo regular si se agrega glucosa al perfundido durante la fibrilación. El etanol (1 a 15 g/l) también permite prevenir o recuperar a ritmo regular la fibrilación ventricular provocada por falta de sustrato.

En experimentos realizados en la preparación de músculo papilar aislado eléctricamente, dirigido y bañado en solución Ringer Locke sin glucosa (30%), oxigenada (95% O<sub>2</sub>; 5% CO<sub>2</sub>), se estudió la interferencia del etanol sobre la tensión desarrollada durante períodos de observación prolongada o en estado de agotamiento del músculo y no se observó efecto significativo sobre la tensión. Sin embargo, durante la hipoxia prolongada (95% N<sub>2</sub>; 5% CO<sub>2</sub>) se produce una disminución gradual de la tensión desarrollada, que a los 10 y 20 minutos de observación, no fue significativamente diferente en el grupo testigo con respecto a los músculos incubados con etanol, pero a los 30 minutos de hipoxia, la tensión fue mayor en los músculos tratados con etanol que en los testigos. Durante la reoxigenación se produjo en ambos grupos una recuperación inmediata pero fugaz de la tensión desarrollada, que a los 2 minutos es significativamente mayor en los músculos con etanol ( $m \pm sm$ ;  $103.6 \pm 8\%$ ) que en el grupo testigo ( $80 \pm 10\%$   $P < 0.02$ ), diferencia que persiste a los 30 minutos de reoxigenación ( $67.7 \pm 2.4\%$  versus  $48 \pm 4.1\%$   $P < 0.01$ ).

El estudio de la actividad alcohol-deshidrogenasa (ADH) en el corazón de 25 ratas evidenció actividad enzimática a partir de pH 9.5 hasta 10.8 y ésta fluctuó entre 250 a 300  $\mu$ Moles de etanol por gramo de tejido fresco por minuto y corresponde aproximadamente de un quinto a un décimo de la actividad enzimática del hígado. Un estudio similar realizado en el corazón de 25 cobayos muestra dos zonas de pH en las cuales hubo mayor actividad enzimática, una alrededor de pH 9.5 y otra mayor entre pH 10 a 10.5, que alcanza a 410  $\mu$ Moles de etanol por gramo y por minuto.

Los resultados permiten plantear la idea que el etanol pudiera ser utilizado para fines energéticos cuando el miocardio se fuerza a ello, es decir, en ausencia de otro sustrato en el medio o cuando se ha sometido previamente a la hipoxia.

#### 8. Efecto de fármacos sobre el apetito de alcohol.

SEGOVIA-RIQUELME, N., HEDERRA, A. y MARDONES, J.— Departamento de Farmacología, Universidad de Chile, Sede Santiago Norte.

Se hará una revisión acerca de los efectos que producen diferentes fármacos, sobre el consumo voluntario de alcohol en ratas y ratones. Se pondrá especial énfasis en el efecto de aquéllos que alteran la función del sistema nervioso central.

Los trabajos realizados por diferentes investigadores difieren ampliamente, tanto en el método utilizado para medir el consumo de alcohol como en las razas de los animales empleadas en los experimentos. Las investigaciones de nuestro laboratorio se han realizado en ratas de los linajes UChA (no bebedores) y UChB (bebedores).

#### 9. Problemas genéticos en el estudio del alcoholismo.

CRUZ-COKE, R.— Departamento de Medicina, Universidad de Chile, Sede Norte.

Existen claras evidencias que el "alcoholismo" es una enfermedad familiar. Sin embargo, debido a que no ha sido posible identificar a ningún polimorfismo genético bioquímico relacionado con él, los genetistas no tienen ningún fenotipo específico con el cual hacer análisis de segregación, con la sola excepción del daltonismo azul-amarillo, ligado al sexo. Se discute si este defecto es genético o adquirido en los alcohólicos. Los siguientes hechos sugieren que la hipótesis de un tipo de alcoholismo; un apetito patológico al alcohol esté controlado por un gen ligado al sexo: 1) Dimorfismo sexual en la prevalencia en relación al equilibrio genético de Hardy-Weinberg; 2) Diferencias de fecundidad compatibles con el modelo de un polimorfismo genético ligado al sexo; 3) Genealogías con patrón típico de herencia ligada al sexo; 4) Ausencia de correlación entre daño hepático por alcohol y defectos de visión de colores; 5) Correlación entre daltonismo azul-amarillo y apetito patológico y farmacológico por alcohol; 6) Presencia de defectos de visión de colores azul-amarillo en parientes no alcohólicos de pacientes alcohólicos. Actualmente estamos estudiando un análisis genealógico por segregación y estudio de ligamento para confirmar o rechazar esta hipótesis. Probablemente un tipo de alcoholismo o una fracción de los alcohólicos son enfermos verdaderamente genéticos controlados por un solo gen o en un locus con varios alelos, tal como se ha descubierto recientemente en la Gota familiar y en el Enfisema familiar (deficiencias de antitripsina y de fosforibosil transferasa de Hipoxantina-Guanina). Para identificar un fenotipo alcohólico estamos usando el sistema de dividir a la población, según el apetito al alcohol, en diversas categorías: rechazo, indiferencia, fisiológico, farmacológico y patológico. Un problema genético conceptual es la alta prevalencia del alcoholismo y su relativo alto riesgo mórbido de los parientes de primer grado, que revelarían al fenotipo alcohólico como un conglomerado de defectos metabólicos mentales agrupados artificialmente dentro de un modelo fijo y rígido, fabricado por los médicos clínicos y los psiquiatras.

### III.— FACTORES HUMORALES EN LA HOMEOSTASIS CIRCULATORIA.

#### 10. Acción inhibitoria de la corticotensina sobre el efecto presor de la angiotensina y noradrenalina.

FASCIOLO, J.C., RISLER, N.R., RABITO, S.F., BINIA, A.— Instituto de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

La corticotensina es una sustancia de naturaleza polipeptídica que se encuentra en extractos de corteza renal (Fasciolo y Risler, 1971). En la rata anestesiada con barbitúricos y bloqueada con pentolinio produce un moderado ascenso de la presión arterial cuando se la inyecta por vía endovenosa. En la mayor parte de los animales inyectados es excepcional obtener respuestas presoras que superen los 30 mm de mercurio, pues la curva dosis respuesta se aplanan rápidamente cuando se aumentan las dosis.

En ratas anestesiadas y bloqueadas, las preparaciones de corticotensina poseen la capacidad de reducir la respuesta presora a las angiotensinas I y II, noradrenalina y vasopresina (Fasciolo y Risler, 1973). Este efecto inhibitorio aparece luego de varios minutos de inyectar la corticotensina y alcanza su máximo entre los 60 y 90 minutos.

Pese a que la corticotensina no ha sido aún obtenida en forma pura, existen evidencias que indican que el efecto presor y el inhibidor son debidos a la misma sustancia: ambos efectos desaparecen por la acción de enzimas proteolíticas y del ácido tioglicólico (Fasciolo y Risler, 1973), no se separan en columnas de Sephadex (Risler y Fasciolo, 1974), y la nefrectomía bilateral previa en la rata de ensayo produce gran disminución o abolición de ambas acciones (Fasciolo y Risler, 1974).

Con el objeto de investigar la influencia de la anestesia y el bloqueo ganglionar sobre el efecto inhibitorio de la corticotensina a la acción presora de la noradrenalina y angiotensina II, se utilizaron ratas a las cuales se les colocaron cánulas en una arteria carótida y una vena yugular, bajo anestesia con éter. Estos animales fueron usados 24 a 48 horas después de la operación, momento en el cual se les registró presión arterial y se les hicieron inyecciones por vía venosa. Cada rata fue usada 2 veces: la primera sin anestesia ni pentolinio, y la segunda, a las 24 horas, con fenobarbital y/o pentolinio. En todas las ratas se midió el efecto inhibidor de una preparación de corticotensina sobre el efecto presor de noradrenalina y angiotensina II. Los resultados obtenidos muestran que la acción de la corticotensina se observa claramente en ratas pretratadas con fenobarbital y pentolinio, mientras que en los animales tratados con una u otra de estas drogas la acción es mucho menos evidente.

El hecho que la nefrectomía bilateral previa en la rata de ensayo reduzca tanto el efecto presor como el inhibidor de la corticotensina, induce a pensar que esta sustancia actúa sobre el riñón promoviendo la liberación de otra sustancia que sería la responsable de los efectos observados. Para profundizar el estudio de este mecanismo, se planearon experimentos en los cuales se usó un grupo de ratas nefrectomizadas 60 a 90 minutos antes, y se lo

comparó con otro grupo con nefrectomía realizada 15 minutos después de la inyección de corticotensina. En ambos grupos se estudió la acción inhibitoria. Los resultados indican que en ese período de 15 minutos la corticotensina tiene posibilidad de actuar sobre el riñón, liberando una sustancia que sería responsable de su acción inhibitoria.

#### 11. Vida media de renina endógena en ratas normales y con isquemia renal unilateral.

DE VITO, E., KONINCKX, A., CABRERA, R.R. y NOLLY, H.L.— Instituto de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

Previamente habíamos observado que la "renina" purificada por Miller y col. tenía una vida media circulante similar en ratas con isquemia renal uni y bilateral, y en animales normales depletados de renina endógena por tratamiento con DOCA y sal. Sin embargo, el "Sustained pressor principle" (SPP), que parecería ser una forma de renina, tenía una vida media más prolongada en animales con isquemia renal uni o bilateral, siendo similar a la de la renina en los animales normales.

Estos resultados, que indicarían una participación del riñón en el metabolismo del SPP, nos llevó a preguntarnos cuál sería el comportamiento de la "renina" endógena en condiciones de una isquemia renal.

Ratas machos de la cepa Wistar de 180-200 gr. de peso fueron separadas en tres lotes.

Lote 1: ratas normales sin manipulación quirúrgica (n=12);

Lote 2: ratas con operación ficticia (n=11);

Lote 3: ratas con isquemia renal unilateral:

a) isquemia leve (n=9).

b) isquemia intensa (n=11).

Doce a 15 días después de la operación los animales fueron anestesiados con fenobarbital. Por vía ventral se abordaron ambos riñones, ligados simultáneamente y extirpados. A los 3 minutos se extrajo una muestra de 0.3 ml de sangre a través de un catéter colocado en la arteria carótida. Esta muestra fue identificada como tiempo cero. A los 15 — 30 — 45 — 60 — 90 — y 120 minutos se extrajeron muestras de sangre (0.3 ml), reponiéndose en cada oportunidad vía vena femoral el mismo volumen de sangre de ratas donantes nefrectomizadas 12 hrs. antes. El plasma fue separado por centrifugación y la renina medida según Nasjlett y Masson.

No se observó diferencias significativas de la vida media de "renina" en los lotes de ratas normales y con operación ficticia. En el lote de animales con isquemia renal unilateral se observó un distinto comportamiento según el grado de isquemia renal. En los animales con isquemia renal leve no se observó diferencias significativas con respecto a los lotes 1 y 2; en cambio, cuando la isquemia fue intensa, la vida media de la "renina" se encontró significativamente prolongada.

Analizando los resultados en base al logaritmo del porcentaje de actividad remanente contra el tiempo, se observó la presencia de dos componentes, uno de desaparición rápida y otro lento. En los animales normales, con operación ficticia y con isquemia unilateral leve, las curvas de estos compo-

entes fueron similares. No así en las ratas con isquemia renal intensa, donde la vida media, sobre todo del componente lento, estaba significativamente alargada.

Estos resultados indicarían que en la isquemia renal severa la vida media de la renina circulante se encuentra prolongada. Para algunos autores la presencia de más de un componente, en estudios de vida media de renina, les hace postular un sistema de compartimentalización y diferente distribución de la misma. Podría ser que este sistema estuviera alterado en las condiciones experimentales descritas prolongando la vida media de la renina. Otra alternativa sería que en estas condiciones, el riñón segregue mayor proporción de una renina de vida media más larga. O bien que el normal catabolismo de la misma esté alterado.

### 12. Influencia del balance de sodio en el sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona.

MARUSIC, E. T.— Departamento de Fisiología y Biofísica, U. de Chile, Sede Norte.

Numerosos estudios se han realizado para definir el rol que desempeña el sistema renina-angiotensina en la homeostasis. La Angiotensina II (A II) presenta una gran variedad de efectos que van desde una acción a nivel de ciertas regiones del cerebro que provocan un estímulo en la ingesta de líquidos, aumento en la secreción de hormona antidiurética, liberación de catecolaminas y acetilcolina de células nerviosas a efectos metabólicos en el miocardio y aorta, y cambios en la composición electrolítica del plasma. Sin embargo, sus dos acciones fisiológicas más significativas son su efecto sobre la musculatura vascular y el efecto sobre las células de la zona glomerulosa de la glándula adrenal. Es bien conocido el hecho de que cambios en el balance de sodio puede modificar los niveles de angiotensina y de aldosterona. El efecto del sodio corporal no se limita a variaciones en los niveles circulantes de angiotensina sino que como lo ha demostrado nuestro grupo y otros autores, se produce concomitantemente un cambio de sensibilidad en efectores tales como la pared vascular y las células de la glomerulosa.

Experimentos diseñados para definir los mecanismos por los cuales la ingesta de sodio regula la sensibilidad a la A II de la corteza adrenal se han efectuado en nuestro laboratorio. Los estudios realizados señalan que la depleción de sodio o una carga de este ión podrían alterar la sensibilidad de la zona glomerulosa no sólo por una acción indirecta a través de los ajustes hormonales y hemodinámicos que se producen por cambios en la ingesta de sodio, sino que existiría también un efecto local, directo del ión sodio.

### 13. Caliceína y mecanismos antihipertensivos renales.

ALBERTINI, R.— Departamento de Fisiología-Embriología, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile.

Datos teóricos y experimentales apoyan la hipótesis de que un factor hipotensor y/o natriurético formaría parte de un mecanismo renal que

impide la hipertensión arterial. Las prostaglandinas y la medulina satisfacen algunos de los requisitos para ser considerados como agentes humorales antihipertensivos, pero todavía no hay suficientes pruebas de que estén primariamente involucradas en el mecanismo humoral antihipertensivo. En los últimos años, se ha vigorizado el concepto de que el sistema caliceína-cininas renales, podría ser un eficiente mediador que el riñón utiliza en la homeostasis del agua, de electrolitos Na y K y en la regulación de parámetros circulatorios como volumen del líquido extracelular y niveles de la presión arterial. Las cininas son potentes vasodilatadores que aumentan el flujo renal, liberan prostaglandinas y estimulan la excreción de agua y sodio. Uno de los fundamentos teóricos más importantes para atribuir al sistema caliceína-cininas una responsabilidad reguladora, es el notable parecido con el sistema renina-angiotensina. Ambos constituyen sistemas únicos y antagonistas que generan por acción proteolítica sobre substratos proteicos específicos, péptidos de potente acción sobre la musculatura de los vasos; pero mientras la angiotensina es el más enérgico vasoconstrictor, las cininas son las substancias vasodilatadoras más potentes. Mientras la angiotensina promueve la retención de sodio, a través de la aldosterona, las cininas aceleran su excreción.

El sistema enzimático caliceína-cininas está profundamente alterado en ciertos tipos de hipertensión arterial experimental y en la hipertensión esencial en el hombre. Los hechos experimentales apuntan hacia un déficit en la capacidad del riñón para producir caliceína en esta condición de alteración homeostática. Químicamente e inmunológicamente la caliceína urinaria y del tejido renal disminuidas en estos modelos de hipertensión son idénticas. La caliceína sería sintetizada en la corteza renal y su síntesis estaría condicionada a diversos factores que activen la excreción de agua y sodio. Los diuréticos y la sobrecarga de agua y de sodio aceleran su síntesis y excreción. Estos hechos apoyan la idea de que esta enzima, a través de la calidina formada, constituiría uno de los factores reguladores de la función excretora renal, de acuerdo con los requerimientos de la presión arterial y de la necesidad de mantener el volumen circulante. Por otro lado, experimentos en riñón aislado y perfundido de diferentes especies, han dejado de manifiesto su capacidad de entregar caliceína a la orina y también al medio circulante, hecho que permite pensar en la posibilidad de que esta enzima no se limite a una acción local intrarrenal sino que también pasa a la sangre para ejercer una acción reguladora del tonus vascular, que estaría en competencia con la de agentes vasoconstrictores.

### IV.— INTERACCION ENTRE PROTEINAS Y LIGANDOS.

#### 14. Las enzimas como proteínas ligantes.

NIEMEYER, H.— Sección de Bioquímica y Biología Molecular. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Sede Oriente.

El conocimiento de la estructura secundaria y terciaria de algunas proteínas, permite disponer de

una información precisa sobre el sitio de unión ("binding") de ligandos a ellas. Esto se ilustra bien en el caso de la lisozima y un sustrato modelo (un hexaglicósido), donde los estudios de difracción de rayos X han revelado con exactitud la disposición de los aminoácidos de la proteína en el sitio catalítico, que proporciona grupos necesarios tanto para la unión del sustrato como para la catálisis de su ruptura hidrolítica.

Numerosas enzimas tienen una estructura cuaternaria, de modo que existe más de un sitio catalítico por molécula de enzima. Estos sitios pueden interactuar entre ellos, de modo que se altera la función de saturación de la enzima por el sustrato, reconocida en experimentos en que se mide la actividad catalítica o el "binding" de sustratos o sus análogos no transformables. Muchas enzimas poseen además sitios alostéricos que permiten la unión de ligandos diferentes a sustratos y productos y que modifican algunos parámetros de la acción enzimática. Estos sitios alostéricos pueden residir en subunidades diferentes a los sitios catalíticos, como ocurre en la aspartil-transcarbamilasa.

La acción de catecolaminas y de numerosas hormonas peptídicas se explica por su unión a receptores específicos, probablemente proteínas, de la membrana plasmática, que modularían la actividad de una enzima, la adenilatociclasa. El AMP cíclico producido bajo la acción de la adenilatociclasa sería capaz de activar la proteínaquinasa, activación que resultaría de la unión del nucleótido a una subunidad de la quinasa inactiva, que al disociarse dejaría libre una subunidad catalítica activa.

Algunas enzimas como la fosfofructoquinasa resultan modificadas en su actividad debido a fenómenos de asociación o disociación de subunidades consecutivas al binding de diversos ligandos.

Los modelos más en boga que explican la interacción de sitios catalíticos y alostéricos se basan en equilibrio de conformaciones proteicas diferentemente estabilizadas por los ligandos o en cambios conformacionales de las proteínas inducidas por los ligandos. Se postula una estructura oligomérica de las enzimas y la acción de los ligandos implica una interacción entre las subunidades, interacción que en uno de los modelos podría ser modificada por los ligandos.

Se han descrito últimamente funciones de saturación no micelaianas (como de efectos cooperativos homotrópicos positivos o negativos) y acción de modificadores alostéricos en enzimas monoméricas. En estos casos también se postulan estados conformacionales diferentes, alterados o estabilizados por ligandos (sustratos, productos, modificadores alostéricos). Los modelos se basan más que en modificaciones de binding, en cambios en los constantes catalíticos resultantes de los cambios conformacionales.

#### 15. Receptores de hormonas esteroidales.

MINGUELL, J. J.— Departamento de Ciencias Químicas y Fisiológicas, Universidad de Chile, Sede Sur.

Muchos datos experimentales sugieren que el núcleo de una célula blanco (target-cell) es el sitio

primario de acción de una hormona esteroidea. Sin embargo, los esteroides no interactúan directamente con macromoléculas del núcleo, sino que en forma previa interactúan con proteínas ligantes o receptores plasmáticos y citoplasmáticos para formar complejos receptor-esteroide.

Las hormonas esteroidales son transportadas por la sangre hasta los diferentes tejidos, siendo retenidas solamente en aquellos donde actúan (tejidos blancos). En la circulación, aproximadamente el 99% de los diferentes esteroides están unidos a proteínas plasmáticas, permaneciendo el resto en forma libre, siendo esta última forma la que es biológicamente activa. Los complejos hormona esteroidea — proteína plasmática que se forman se caracterizan por tener baja afinidad y alta capacidad de unión (complejos con albúmina,  $K_e: 10^4 M^{-1}$ ) o bien tener alta afinidad y baja capacidad de unión (complejos con proteínas plasmáticas específicas,  $K_e: 10^9 M^{-1}$ ).

Entre las proteínas plasmáticas específicas que unen esteroides, una de ellas la SHBG presenta características interesantes, por cuanto es capaz de unir a un sitio común dos hormonas: estradiol y testosterona. Sin embargo, los complejos formados con cada una de las hormonas poseen constantes de equilibrio diferentes, lo que permite que se forme un verdadero servomecanismo de regulación de la concentración de la hormona libre sólo en función de la concentración relativa total de ambos ligandos.

A nivel intracelular, la hormona esteroidea se une a proteínas ligantes de alta estereoespecificidad ubicadas en el citosol que se caracterizan por tener un coeficiente de sedimentación de alrededor de 4S en condiciones de alta fuerza iónica (0.4 M KCl) y de 7-8 S en condiciones de baja fuerza iónica. Ambas formas son capaces de unir la hormona, pero para que el complejo resultante pueda ser trasladado al núcleo, es necesario un proceso de activación, que en su forma experimental más simple se logra por calentamiento.

Como resultante de este proceso, se produce un nuevo complejo con coeficiente de sedimentación de 4.5 S (sistema próstata-5  $\alpha$  DHT) o 5 S (sistema útero-E2). No es claro si a nivel celular este proceso de activación deriva de la acción de enzimas, de cambios conformacionales o de asociaciones específicas o inespecíficas de los receptores no activos.

La forma activa del receptor es trasladada al núcleo, donde se asocia a componentes proteicos de la cromatina. Para el sistema útero-E2, la actividad aceptora ha sido caracterizada y corresponde a una proteína básica, diferente de histonas, con un peso molecular de 80.000 daltons y con alta especificidad de unión para el complejo receptor —E2 ( $K_d = 10^{-10} M$ ). Para el sistema oviducto-progesterona en cambio la actividad aceptora ha sido localizada en una fracción (AP3) de proteínas no histónicas.

La interacción del complejo hormona-proteína ligante con el o los sitios aceptores en cromatina se traduce en una modulación de la actividad génica de las células de un determinado tejido blanco.

No está claro aún, si esta modulación es mediada por la salida, por cambios o por adición de

elementos regulatorios a la compleja estructura de la cromatina.

#### 16. Receptores de membranas.

GALANTI, N.— Unidad de Biología Celular. Departamento de Biología Celular y Genética, Universidad de Chile Sede Norte.

Parece evidente que las membranas celulares tienen regiones fluidas donde pueden ocurrir movimientos de ciertos componentes en el plano de la membrana, tales como: antígenos, enzimas, receptores, etc. Estos movimientos dependen de la temperatura; ocurren "libremente" por sobre 15°C pero están restringidos a temperaturas inferiores. Esta restricción se debe, por lo menos en parte, al cambio de fase de sol a gel cristalino que ocurre en la bicapa de lípidos cuando la temperatura es menos de 15°C.

Los ligandos provenientes del medio externo son capaces de inducir estos movimientos de traslación de los constituyentes macromoleculares de la membrana, facilitando interacciones moleculares que probablemente juegan un rol crítico en la modulación de señales a través de las membranas.

Se ha ido acumulando evidencias que sugieren la participación de estructuras submembranas en la modulación de los efectos causados por el movimiento de las moléculas en el plano de la membrana. Así se ha postulado que los receptores de membrana pueden existir en dos estados interconvertibles: un estado "libre", en el que pueden difundir lateralmente en la membrana y un estado de restricción, en el que los receptores interactúan directa o indirectamente con estructuras subyacentes a la membrana plasmática (microfilamentos, microtúbulos o macromoléculas asociadas a la cara citoplasmática de la membrana). De esta manera, la interacción entre un estímulo (ligando) y un sitio de la membrana plasmática (receptor) no sólo implicará reordenamiento de moléculas en la membrana, sino también efectos químico-mecánicos en el citoplasma.

La participación de microfilamentos y/o microtúbulos en la respuesta a estímulos puede estar relacionada con los movimientos de nucleótidos cíclicos y de ciertos iones, observados frecuentemente después de la interacción ligando-receptor. Este mecanismo puede aplicarse además a perturbaciones físicas que actúan sobre los receptores. Este hecho obliga a revisar el concepto clásico de especificidad frente al estímulo, que lleva asociado el término receptor. La especificidad probablemente puede circunscribirse al camino más o menos dirigido que seguirá la respuesta dentro del citoplasma.

Cuando el estímulo altera la expresión génica de una célula, el problema estímulo-modulación-expresión puede enfocarse considerando un sistema de dos agregados moleculares que interactúan entre sí: la membrana y la cromatina. Cuando una molécula (ligando) interactúa con un componente (receptor) de estos agregados moleculares induce cambios conformacionales en él. Esta situación provocará una alteración en las relaciones entre ese componente y los que le rodean, de manera que puede desenmascarse una zona del agregado

cromatina, o liberarse moléculas mensajeras del agregado membrana, o activarse estructuras subyacentes a la membrana. El estímulo puede actuar inicialmente sobre cualquiera de los dos agregados, pero la perturbación en uno de ellos llevará a cambios en el otro. La acción inicial de ligandos sobre membrana o cromatina dependerá fundamentalmente del momento en que se encuentre la célula en su ciclo de vida.

La integración de estas ideas, cada una de ellas sustentada por evidencias experimentales, en un modelo coherente y simple, permitirá interpretar resultados en un contexto general y establecer líneas experimentales con objetivos definidos.

#### 17. Transporte mediado por proteínas.

ALVAREZ, O.— Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Sede Oriente.

La excitabilidad celular es un fenómeno generado por cambios de la permeabilidad de la membrana celular. La transmisión de impulsos nerviosos, por ejemplo, se produce por cambios transitorios de la permeabilidad al sodio y al potasio, provocados por una variación del potencial eléctrico de la membrana. El propósito de este trabajo es responder a las preguntas: ¿Cómo pasan los iones a través de la membrana? ¿Cómo cambia la permeabilidad?

La estructura básica de la membrana celular es una capa bimolecular de lípidos cuya continuidad está interrumpida por proteínas. La bicapa actúa como barrera al paso de los iones. Las proteínas son responsables de la permeabilidad selectiva, excitabilidad, transporte activo, etc. Esta estructura y función se reproduce en las bicapas artificiales de lípidos modificadas por proteínas. Estas membranas tienen alta permeabilidad iónica que se puede explicar por dos mecanismos: formación de complejos liposolubles que transportan iones a través de la membrana, o formación de canales dentro de los cuales difunden los iones.

El antibiótico Gramicidina-A es un agente formador de canales. Se trata de un péptido de 16 residuos. La permeabilidad de las bicapas tratadas con Gramicidina-A presenta fluctuaciones: el flujo de iones varía a saltos, cada uno de los cuales representa la formación o la desaparición de un canal. El análisis estructural de este péptido indica que dos moléculas pueden formar un poro estable de 50 Å de longitud y 8 Å de diámetro interno; el interior es polar y el exterior es no polar.

El antibiótico Valinomicina es un transportador. Tiene una estructura similar a un péptido cíclico de 12 residuos. Forma complejos liposolubles que transportan iones tanto en fases macroscópicas como en películas bimoleculares de lípidos. La estructura de los complejos de Valinomicina se conoce con detalle por cristalografía de rayos X. Sus dimensiones son de 11 x 13 x 16 Å.

El "Material Inductor de Excitabilidad", EIM, es una proteína de peso molecular 50.000. Las bicapas tratadas con EIM son excitables: presentan permeabilidad variable, en función del potencial eléctrico. El EIM forma canales que tienen

dos estados posibles. Uno de alta permeabilidad y otro de baja permeabilidad. La permeabilidad de la membrana es variable porque la constante de equilibrio de la interconversión de los dos estados es función del potencial eléctrico.

El estudio directo de las proteínas de las membranas de células nerviosas no ha podido ser atacado por la dificultad de poder obtenerlas nativas fuera de la membrana. Sin embargo, los estudios indirectos indican que los mecanismos que dan cuenta de la excitabilidad del axolema son similares a los encontrados en las bicapas tratadas con EIM.

#### 18. Proteínas musculares, sus ligandos y contracción.

LUXORO, M.— Sección de Fisiología, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Sede Oriente.

Son muchas las proteínas extraídas de músculo; pero son cuatro las más importantes, a las que se atribuye una acción específica en la contracción:

1. *Miosina*: P. mol. 450 mil, formada por dos cadenas largas y dos cortas, asociadas por fuerzas de V. der Waal y enlaces de hidrógeno. Hidrólisis controlada y microscopia electrónica demuestran que está formada por una parte delgada y larga (meromiosina liviana o "LMM") y otra pesada ("H.M.M."), tiene forma de un bastón terminado en dos cabezas. La parte delgada puede asociarse con sus congéneres formando filamentos gruesos de los cuales protruyen,  $\pm$  cada 400 Å, las "cabezas" de "H.M.M."

Esta H.M.M. liga <sup>1</sup>ATP por mol. hidrolizándolo en presencia de Mg<sup>++</sup>. También liga a la actina con lo que la actividad ATP-ásica se incrementa por más de un orden de magnitud. Mg ATP tiene dos efectos sobre la interacción miosina-actina: a) activador (con hidrólisis de ATP) y b) depresor (o disociador) (sin liberación de Pi terminal). La fuerza iónica y la concentración de ATP son los factores más influyentes en determinar el balance entre ambos efectos. Se piensa que la contracción es el resultado del predominio del efecto activador y que la relajación sería lo inverso. Miosina es el único componente conocido de los filamentos gruesos que ocupan sólo la banda A del sarcómero.

2. *Actina*: Su estado más elemental es el de una proteína globular de P. molec. 50.000, la "actina G". Esta contiene ligado <sup>1</sup>ATP y 1 Ca<sup>++</sup> por mol. La agregación de la actina G, "cabeza con cola", produce filamentos de "actina F.", e hidrólisis del ATP ligado, lo que ocurre en presencia de cationes. Actina F tiene longitudes de 0.1 a 20 $\mu$  con máxima frecuencia de 1 a 2.

Estudios con difracción de rayos X y con el microscopio electrónico demuestran que la actina F consiste de una doble cadena helicoidal con un paso de + 370Å y con subunidades globulares de 55Å de diámetro (actina G.).

La actina también interactúa con miosina en ausencia de ATP: liga miosina (en soluciones de alta fuerza iónica), formando un complejo llamado "actomiosina". La estructura en forma de "cabezas de flecha" que muestra este complejo (al M.E.) prueba el carácter polar de la actina F. Actina F es el mayor constituyente proteico de los filamentos delgados del sarcómero (banda I, e interdigitados con los filamentos gruesos, en la banda "A" que no es "M").

3. *Tropomiosina*: Filamentosa, cristizable, P. mol.  $\pm$  68 mil, longitud 385 Å, casi 100%  $\alpha$  hélix. Dos subunidades idénticas. Es ligada por la actina F, asociándose a ella en forma completamente paralela.

Ejerce cierta influencia, aunque no dramática, en la interacciones actina-miosina.

Se encuentra a lo largo de los filamentos delgados, 1 molécula cada 400 Å.

4. *Troponina*: Globular. P. mol. estimado entre 40 y 90 mil. Recientemente separada en subunidades.

Presenta una fuerte afinidad por el ión calcio. Liga 4 a 5 moles de Ca<sup>++</sup> por 100 mil gramos de proteína. Ligamen reversible y altamente específico.

Es ligada 1:1, en un sitio particular, por la tropomiosina. Efectos de la tropomiosina en la actina se hacen notables y significativos en presencia de troponina. En el músculo la troponina se encuentra a lo largo de los filamentos delgados, cada 400 Å, ligada a 1 molécula de tropomiosina.

Los iones Ca influyen en la resonancia paramagnética electrónica del complejo actina F - tropomiosina, sólo si hay troponina (que liga Ca<sup>++</sup>) presente. También el Ca<sup>++</sup> altera la dispersión de luz de actina F ("casi elástica"), sólo cuando tropomiosina (que no liga Ca<sup>++</sup>) y troponina están presentes.

De las propiedades anteriores y de la estructura del músculo, fluye lo siguiente:

- La relajación ocurriría (con Ca  $\leq 10^{-7}$  M) debido a un efecto represor de la troponina en la interacción miosina-actina F - Mg ATP.
- La represión sería mediada por la tropomiosina hacia la actina la cual obligada a un cambio configuracional no interactuaría con la miosina.
- El Ca<sup>++</sup> ( $\geq 5 \times 10^{-6}$  M) al ser ligado por la troponina eliminaría la represión y desencadenaría la interacción y, por ende, la contracción.

El mecanismo fisiológico in-situ implica un deslizamiento de los filamentos delgados entre los gruesos, debido a un movimiento de vaivén de los puentes H.M.M.