

## 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 action of antichagasic drugs).

Aldunate, J. (1), Rapetto, Y. (1), Coloma, L. (2), Moncada, C. (3), Letelier, H. 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 tripéptido 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*)  $\gamma$ -IFN 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  $\gamma$ -IFN 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 plasmodios, 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 suí 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, N. 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 histona 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/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. Arnesto & 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 inter-específica 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

COEVOLUCIÓN ENTRE PLANTAS Y POLINIZADORES: ¿SE DAN LAS CONDICIONES EN LOS ANDES CHILENOS? (Does pollinator-plant coevolution occur in the Chilean Andes?). Arroyo, M. I. 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. Jaksic).

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"; Acanthocylus 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 explota 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 simpátridos 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 beneficiosas 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 cristallino 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 cristallinas 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 intervenirían 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). Blaguer, 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 un 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. Esperiencias 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: *Nibaldo 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 per 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 metastasis. 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 reconocida. 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 interviendría 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 murino y con una fracción (D-S18M) aislada de la membrana basal del testículo de la rata que posee determinantes antigénicos comunes con Lam. Ratas inmunizadas con Lam o con D-S18M 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, Universidade Federal de Rio 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 sustancias 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 elauinicas 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) Valázquez 144-28006, Madrid, España.

El nucleolo 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) Nucleolo organizado o maduro. Estos periodos 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 nucleolo 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 periodos 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 Layton, 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 bromosustituido, impide el paso de las células a metafase e inducen 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 desensamblaje 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 desensamblado, 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 disociadas. 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). Videla, L.A. & Fernández, V. Unidad de Bioquímica, Depto. Ciencias Biológicas, Facultad de Medicina-División Occidente, 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 y 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 e, 2 e o en 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 cierto 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 (Sies, 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 polución atmosférica particularmente 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 Foundation 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 NUCLEO COMO ORGANELOS BLANCO DE PROTEINAS TRANSFORMANTES (Proliferative activity of transformed cells. Plasma membrana and nucleus, targets for transforming proteins). Santos, M.; Carmona, M.T.; Arenas, C.P.; Ordones, 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 tem mosensibles 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 glomerulosa cells during the action of angiotensin II and ACTH). Poster, 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 totalmete 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 TRIPOSFATO EN ACOPLAMIENTO EXCITACION CONTRACCION** (Possible rol of inositol triphosphate 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 trisfosfato (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  $10^{-6}$  M a  $10^{-5}$  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 ION 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 ion 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 el 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 reactiva 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-fosfato-3-fosfatasa, y los aminoglicósidos, que inactivan la fosfolipasa C, insensibilizan al túbulo colector al efecto hidrogsmótico 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<sup>32</sup> muestran rápida incorporación del P<sup>32</sup> principalmente en ácido fosfatídico (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 1-desamino-D-arginina-8-vasopresina, agonista V<sub>2</sub> predominante, (35-75 nM) aumentó rápidamente, relativo a controles, la incorporación de P<sup>32</sup> 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 acurrimiento demostramos que esas dosis de IP<sub>3</sub> liberan Ca<sup>2+</sup> de depósitos sarcoplasmáticos compatible con las tensiones generadas. Con inositol tritiado 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  $\beta$ -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 sialoadenectomía pregestacional hace disminuir la capacidad de respuesta  $\beta$ -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 cromafin 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). Benjamin 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 triada 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 92, 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 basada 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 la 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 aquellas especies autóctonas potencialmente cultivables y atractivas 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 (Patinopecten yessoensis), siendo Japón actualmente el 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 desde 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 nivel 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 Cancriidae. 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 hiperalgésica 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. Martin: 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 AMPcíclico, 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 AMPcíclico (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 hiperalgésia 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.



# Simposio

## 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 neuropeptidos existentes en esas regiones cerebrales.

**COLECISTOQUININA Y DOPAMINA COMO MODELO DE INTERACCIONES ENTRE NEURONAS PEPTIDERGICAS Y MONAMINERGICAS 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 carbaol. 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 DOPAMINÉRGICA 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 amfetamina.
- 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 triada 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 FARMACOLÓGICO Y BIOQUÍMICO 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-II 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). Oyarzún, 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-oxygenasa.

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  $F_{CO_2} = 0.05$  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) instalada en las vías aéreas en forma de liposomas reactivos.

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-NHL8I; American College of Physicians y 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 cartílago en traquea y bronquios así como la tracción radial que el tejido pulmonar ejerce sobre la VA intrapulmonar. Es así como el ablandamiento del cartílago 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.** (Chemiosensory 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 carotídeo, el otro nervio carotídeo 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<sub>2</sub> 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 carotídeo.

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 arquicerebro. 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.

**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). Guic-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 electrofisiológicos 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

**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.  
Apoyado por el proyecto FONDECYT 490-87.

**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 diencéfalo 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.

# Simposio

R 165

## GENETICA DE ORGANISMOS MARINOS

Coordinador: *Nelson Díaz*

VARIABILIDAD GENETICA EN TRES ESPECIES DE PECES PELAGICOS (Genetics variability in three species of pelagic fish). Gallequillos, 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, LIOSTREA CHILENSIS (Relationship among genetic structure and some biotical and abiotical parameters in the Chilean oyster, Liostrea chilensis). Guiñez, R., Universidad Católica de Chile, Talcahuano. Dirección actual: Dept. Biol. Ambiental, Casilla 114-D, Santiago.

La ostra chilena, Liostrea 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 encajonarse, 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 simpátricas (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 realza.

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 paramétricos 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 2596-8714, 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 rudé* 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 (Project 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 embrionaria).** 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. Centrioles 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 centrioles. Remarkably centrioles 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.