

SOCIEDAD CHILENA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS

IV Reunión Anual
4 y 5 de mayo de 1989

Montemar, Chile

**Resúmenes de
COMUNICACIONES**

COMPOSICION DEL LIQUIDO DE INFUSION Y FUNCION CARDIACA EN EL SHOCK POR QUEMADURA. (Resuscitation fluid composition and myocardial performance during burn shock). Conahan, S., Dupre, M., Giacomo, M.A., Fowler, C., Torres, C. y Miller, H. Departamento de Fisiología, LSU Medical Center, Nueva Orleans (USA) y Departamento de Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina de la Universidad de la Frontera, Temuco. (Patrocinio: Dr. E. Vivaldi). En cuyes, sometidos a quemadura de 3er. grado del 35-40 % de superficie corporal, se examinaron los efectos de la composición de diferentes líquidos de infusión sobre la función miocárdica (FM), el contenido de ATP miocárdico y sobrevida a las 48 hrs. Se estudiaron 4 grupos: 1) sin infusión, 2) solución salina isotónica, 3) Ringer-lactato y 4) Ringer-acetato, usando animales no quemados como control. Los líquidos se administraron durante 4 hrs post-injuria, momento en el cual se evaluó la FM en preparación de corazón aislado. Se observó una depresión significativa de la FM, evidenciado por una disminución del gasto cardíaco, dP/dt , $-dP/dt$ y del trabajo cardíaco, en los grupos 1 y 2, no significativa en el grupo 3, mostrando el grupo 4 gasto cardíaco y contractilidad normales. El contenido de ATP miocárdico fue igual al de los controles, excepto para el grupo 3, en el que fue significativamente menor. En otro grupo de animales, la infusión durante 48 hrs. produce diferencias significativas en la sobrevida: sólo sobrevivieron los animales tratados con Ringer-acetato. Estos datos muestran diferencias importantes en la efectividad de los líquidos de infusión y que el Ringer-lactato, el más usado en clínica, puede no proporcionar un beneficio óptimo.

SULFATO REGULA LA CONDUCTA Y LA EXPRESION DE MACROMOLECULAS SULFATADAS DE LARVAS DE C. concholepas (Sulfate regulates the larval behavior of C. concholepas and the synthesis sulfated macromolecules). Brandan, E., González, M., Tremblay, C., González-Plaza, R. e Inestrosa, N.C. Unidad Neurobiología Molecular, Fac. Cs. Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. La expresión de macromoléculas sulfatadas se ha sugerido como un fenómeno importante durante el desarrollo de algunos invertebrados marinos. Hemos estado evaluando la participación de macromoléculas sulfatadas durante el desarrollo y en el comportamiento natatorio de larvas veligeras de C. concholepas. Hemos encontrado una dramática disminución en la movilidad natatoria de las larvas, cuando son incubadas en bajas concentraciones de sulfato, sin que se afecte la incorporación de ^{35}S -metionina a proteínas. Un aumento de la concentración de sulfato libre en el medio de incubación, indujo un incremento en la sulfatación en más de 30 veces, sin que se afecte la incorporación de ^{35}S -metionina. Análisis de las macromoléculas sulfatadas indican que más del 85% del sulfato se incorpora a proteoglicanos sulfatados de alto peso molecular, los cuales son sensibles al ácido nítrico, sugiriendo la presencia de cadenas del tipo heparán sulfato en ellos. La expresión de estas macromoléculas sulfatadas aumenta con el desarrollo. Estos resultados sugieren la posible participación de estas macromoléculas sulfatadas en la conducta natatoria de larvas veligeras de C. concholepas y que la aparición de estos proteoglicanos estaría regulada temporalmente durante el desarrollo. (IFS A-1407-1; FONDECYT-Sectorial "Loco").

CARACTERIZACION AUTORADIOGRAFICA DE SUBTIPOS DE SITIOS DE UNION PARA FACTOR NATRIURETICO AURICULAR (ANP) EN EL RIÑON DE RATA. (Autoradiographic characterization of subtypes of atrial natriuretic peptide binding sites in the rat kidney). Salas, S.P., Power, R.F., Wharton, J., Brown, J., Polak, J.M. Depart. of Medicine and Histochemistry, RPMS, London and Physiology Laboratory, Cambridge. (Patrocinio: J.S. Roblero).

Se ha demostrado que un análogo estructural de ANP, el C-ANP, se une específicamente a receptores de ANP que no están acoplados a GMPc y cuya función sería la de actuar como clearance del péptido endógeno (Maack, 1987). El objetivo del presente trabajo fue el de caracterizar la distribución a nivel renal de subtipos de receptores para ANP mediante autoradiografía *in vitro*.

Secciones de tejido renal (10µm) fueron incubadas en buffer fosfato conteniendo 125-I-ANP (10-2000 pM) por 15 min. Secciones paralelas se incubaron en igual cantidad de 125-I-ANP más la adición de ANP, C-ANP o atriopeptina I (API). Al finalizar la incubación, las secciones se lavaron en buffer, se secaron y se expusieron a un film radiosensible por 4-14 días. Los autoradiogramas fueron cuantificados mediante densitometría computarizada (IBAS 2000).

Autoradiogramas demostraron la presencia de sitios de unión específicos para ANP en el glomerulo, vasa recta y médula interna. Adición de ANP desplazó específicamente el 90% del 125-I-ANP unido en estas regiones. Sin embargo, C-ANP sólo desplazó un 60% de la unión a nivel glomerular, sin competir con la unión en las otras regiones. API compitió con el 90-100% de la unión específica de ANP a nivel glomerular, aunque con una afinidad 10 veces menor; a nivel medular y en vasa recta, API sólo desplazó un 60% de la unión específica de ANP.

En conclusión, los resultados de este trabajo demuestran la existencia de una distribución anatómica distinta para subtipos de receptores de ANP, estando los de clearance ubicados de manera preferente a nivel glomerular. S.P.S. becaria de ODEPLAN; R.F.P. becado Wellcome Trust.

LA DOPAMINA NIGRAL Y SU FUNCION REGULADORA SOBRE LA LIBERACION DE AMINOACIDOS EXCITATORIOS DESDE TERMINALES CORTICO NIGRALES. (Nigral dopamine and its regulatory function on release of transmitter from cortico-nigral nerve endings). Abarca, J., y Bustos, G. Lab. Farmacología-Bioquímica, Depto. Biología Celular, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Dopamina (DA), almacenada en dendritas de neuronas dopaminérgicas centrales, puede ser liberada fisiológicamente e interactuar con sistemas neuronales existentes en Substantia Nigra (SN). En el presente trabajo, hemos estudiado la posibilidad que DA module la liberación espontánea y evocada de aminoácidos excitatorios en SN, mediante el uso de ligandos específicos para los diversos subtipos de receptores dopaminérgicos (D₁ y D₂) y además modificando los niveles endógenos de DA nigral.

Cortes de SN se incubaron con D-aspartato tritiado (D-Asp³H) y se superfundieron con Krebs-Ringer-Fosfato. La liberación fue evocada por estímulo eléctrico (20 Hz 1 sec 1 V) durante 2 min. Agonistas de receptores dopaminérgicos como Apomorfina, ADTN y SKF-38393; como también la administración de AMP cíclico potencian la liberación evocada de D-Asp³H. Estos efectos fueron bloqueados por Haloperidol, (+) Butaclamol y SCH-23390, es te último un antagonista específico de receptores D₁. Sulpiride, un antagonista de receptores D₂, no fue capaz de bloquear la potenciación señalada.

La presencia de Tiramina (10 µM) produjo una potenciación de la liberación evocada de D-Asp³H. Este efecto no se manifestó en cortes nigrales deficientes en DA, los cuales provienen de ratas tratadas con Reserpina (1 mg/kg) o lesionadas con 6-OH-DA a nivel del haz medial cerebro anterior.

Estos resultados nos permiten proponer para DA nigral, un papel modulador sobre la liberación evocada de aminoácidos excitatorios desde la vía cortico nigral. Este efecto se ejercería fundamentalmente a través de la interacción con receptores dopaminérgicos del tipo D₁. (Apoyado por Fondecyt y Diuc).

RECEPTORES COLINÉRGICOS EN CELULAS CROMAFINES DE GLANDULA ADRENAL DE ANFIBIO. (Cholinergic receptors of chromaffin cells from amphibian adrenal gland). Urbina, N., Luxoro, M. y Nassar, V. Laboratorio de Fisiología Celular, Montemar, Facultades de Medicina y de Ciencias, Universidad de Chile.

La acción de la acetilcolina (ACh) ocurre a través de receptores nicotínicos y/o muscarínicos. La respuesta nicotínica induce entrada de Ca^{2+} , en tanto que la muscarínica parecería o movilizar Ca^{2+} intracelular (receptores M_1) o sintetizar c-GMP (receptores M_2) lo que inhibiría la secreción de catecolaminas (CA). La participación de los distintos receptores colinérgicos difiere en los sistemas secretores estudiados y su función no ha sido aún esclarecida.

En este trabajo, hemos estudiado la influencia de los distintos receptores en la respuesta colinérgica de la glándula adrenal de *Caudiverbera caudiverbera* con el objeto de dilucidar el rol de cada uno de ellos en la secreción. Una vez aislada, la glándula fue incubada por periodos de 5 minutos consecutivos en 200 μ l de distintas soluciones, según el protocolo. Las CA liberadas fueron analizadas en 50 μ l de cada muestra, mediante método fluorimétrico. Mientras que la nicotina (100 μ M) indujo considerable liberación de CA, la muscarina (100 μ M) no tiene efecto alguno. Hexametónio (100 μ M) y D-tubocurarina (100 μ M) bloquean la respuesta a la nicotina. En cambio, la respuesta a ACh (200 μ M), la cual es bloqueada por hexametónio, sólo fue levemente inhibida por un drástico tratamiento con D-tubocurarina. La respuesta a nicotina fue bloqueada por muscarina (100 μ M), mientras que aquella a ACh fue parcialmente inhibida. Esta inhibición fue en ambos casos eliminada por atropina (100 μ M). De lo anterior, concluimos que en estas glándulas, el efecto estimulante de la ACh se efectúa mediado por receptores nicotínicos y postulamos una actividad muscarínica del tipo M_2 , que no conduce a secreción y de carácter posiblemente regulatorio.

Agradecemos financiamiento de CONICYT y de DTI, Universidad de Chile.

EXCRECIÓN BILIAR DE LÍPIDOS EN RATAS HIPOTIROIDEAS CON DIETA SUPLEMENTADA CON ACEITE DE ROSA MOSQUETA. (Biliary lipid output in hypothyroid rats fed a rose hip oil supplemented diet). González, I., Ibacache, C., López, L.B., y Montero, C. Departamento de Fisiología Normal y Patológica, Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso. (P:M.RoncaglioTo)

La litiasis biliar se relaciona con el colesterol excretado en la bilis. Trabajos previos indican que los ácidos grasos poliinsaturados, abundantes en el aceite de rosa mosqueta (*Rosa moschata* Mill) (ARM), aumentan la excreción biliar de colesterol y disminuyen el flujo biliar, efectos que podrían relacionarse con cambios en la fluidez de membranas hepáticas. El hipotiroidismo inducido disminuye la fluidez de membranas y el flujo biliar. Ratas Sprague-Dowley, machos, de 124 ± 17 g ($\bar{X} \pm DE$) se distribuyeron en 4 grupos que recibieron, durante 28 días, el siguiente tratamiento: A: Pellet comercial, B: Pellet comercial más PTU (Propil-tiouracilo) al 0,1% en el agua de bebida, C: Dieta suplementada con 16% ARM D: Dieta suplementada con 16% ARM más PTU al 0,1% en el agua de bebida. Los animales tratados con PTU exhibieron menor crecimiento ($p < 0,001$), con relación porcentual de hígado similares a sus controles. El flujo biliar y la excreción biliar de colesterol fueron menores en los animales hipotiroideos, siendo más importante el descenso en las ratas alimentadas con ARM ($p < 0,001$). La administración de PTU provocó una reducción de la capacidad litogénica de la bilis, siendo el valor más bajo de la relación C/FL la del grupo D. Los resultados indican que la ingestión de ARM ocasionó un aumento de la respuesta de los animales al hipotiroidismo ocasionado por PTU, en las condiciones en que se efectuó el ensayo. Financ.: FONDECYT 2025 y COESAM

EFFECTOS DE ACEITES VEGETALES SOBRE LA FUNCIÓN CARDIOVASCULAR EN RATAS.

LADRON DE GUEVARA Raúl, MUÑOZ Beatriz, ACUÑA Patricia y LOPEZ Luis.

Departamento de Fisiología, Escuela de Medicina y Departamento de Farmacología, Escuela de Química y Farmacia, de la Universidad de Valparaíso.

Diversos trabajos han demostrado que componentes de ácidos grasos de la dieta pueden modificar la composición lipídica de membranas celulares incluidas las de corazón. La incorporación de ácidos grasos en la matriz lipídica y/o en la composición de los fosfolípidos de membrana, debería por lo tanto, traducirse en alteraciones de la función del miocardio.

El propósito de este trabajo es evaluar el efecto de una dieta enriquecida con ácidos grasos poliinsaturados de origen vegetal sobre la composición de fosfolípidos de membrana y su implicancia en la función inótropa y cronótropa del corazón.

Ratas macho fueron alimentadas por 30 días con dietas semipurificadas Control, 20% aceite de Mafz y 20% aceite Rosa Mosqueta (ARM).

Resultados preliminares obtenidos en corazones perfundidos (modelo Langendorff) muestran una tendencia a la bradicardia y una disminución del flujo coronario en ratas tratadas respecto de las Control. Además, aurículas aisladas de ratas tratadas, presentan menor frecuencia y menor tensión máxima que las ratas Control. La estimulación, con agonistas alfa y beta adrenérgicos selectivos y no selectivos, no presentó variaciones importantes en la dirección de la respuesta esperada.

FINANCIADO POR FONDECYT-COESAM U. VALPARAISO

SÍNTESIS DE PROSTAGLANDINAS POR CORAZÓN EN SOBRECARGA CRÓNICA. (Prostaglandins synthesis by chronic overloaded heart).

Zamorano, B. Departamento de Ciencias, Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Recientemente demostramos aumento significativo de prostaglandina E_2 (PGE_2) en corazón sometido a sobrecarga crónica. Este estudio analiza la capacidad de biosíntesis de PGE_2 y $PGF_{2\alpha}$ por miocardio de rata en sobrecarga crónica de presión (SCP) y de volumen (SCV).

Se usaron 18 ratas adultas Sprague-Dawley normotensas ($104 \pm 0,86$ mm Hg). La SCP se indujo por constricción aórtica subdiafragmática, y la SCV por fístula arteriovenosa (aorto-cava abdominal). Después de un mes, trozos finos de miocardio se incubaron en solución Krebs-Hesseleit (pH 7.4) en presencia de ácido araquidónico (1 μ g/ml). La concentración de PGE_2 y $PGF_{2\alpha}$ en alícuotas del medio de incubación se determinó por RIA previa extracción y separación cromatográfica.

La hipertrofia del corazón por SCP y SCV se asoció a mayor biosíntesis de PGE_2 y $PGF_{2\alpha}$ por las 4 cámaras cardíacas ($p < 0,001$), lo que sugiere una relación con la mayor actividad cardíaca.

(Financiado por Proyecto B 2008-8523 D.I.B., Universidad de Chile).

DESARROLLO POSTNATAL DE CALICREINA RENAL. (Postnatal development of renal kallikrein). Humphreys J., Corthorn J., Vio CP. Unidad de Regulación Neurohumoral, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago.

El riñón en el recién nacido es un órgano inmaduro que sufre importantes cambios en morfología y función durante el período postnatal, clasificándose éste en: riñón temprano (2-6 días), riñón intermedio (10-15 días), riñón maduro (30-38 días). El objetivo de este trabajo fue estudiar en estos 3 períodos de desarrollo postnatal la producción y activación de calicreina y la morfología de sus células productoras.

Se usaron ratas Sprague Dawley de 5, 15 y 30 días de edad (n=15 cada grupo). Cortes de tejido renal se tiñeron con el método PAP usando un anticuerpo específico anticalicreina renal (1:5.000). La cantidad de calicreina activa y calicreina total (activa más procalicreina) fue medida por su capacidad cininogénica, la que fue 0,4, 1,2 y 1,4 ugBK/min/g (activa) y 1,9, 3,3 y 7,9 ugBK/min/g (total) a los 5, 15 y 30 días de edad. El porcentaje de calicreina en forma inactiva fue similar al de riñones de ratas adultas (70-80%) lo que sugiere que el proceso de activación de calicreina no depende de la maduración.

El análisis morfológico mostró el patrón característico de maduración centrífuga del riñón, y que los túbulos y las células teñidas para calicreina aumentan en número, tamaño e intensidad de la tinción. A los 5 días los túbulos conectores se encuentran en menor cantidad, aparecen dilatados, tienen menor longitud y las células son escasas y se tiñen con menor intensidad que los de 30 días, además de la existencia de mitosis. El tamaño celular aumentó de 74,9 - 0,9 μm^2 (n = 334) a los 5 días hasta 115,3 - 1,7 μm^2 (n = 327) a los 30 días (p<0,05). De acuerdo a nuestros resultados la maduración postnatal de calicreina renal consiste en una proliferación de células del túbulo conector, en una migración de las células productoras de calicreina desde la médula a la corteza renal y en un aumento de su tamaño y del contenido de calicreina activa y total.

Financiado con FONDECYT 2047/87, 741/87 y 346/89

EFFECTOS DE LA PEPSANURINA EN LA DIURESIS INDUCIDA POR ATRIOPEPTINA II Y FUROSEMIDA. (Effects of pepsanurin upon diuresis elicited by atriopeptin II and furosemide). Croxatto, H., Albertini, R., Silva, R., Vergara, T. y Canales, M. Unidad de Regulación Neurohumoral, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La pepsanurina (PU) péptido(s) obtenido(s) por hidrólisis con pepsina de globulinas plasmáticas inhibe la excreción urinaria tanto de ratas hiperhidratadas como de las que reciben un bolo de atriopeptina (AT) pero no afectan significativamente la diuresis inducida por dosis altas de furosemida (FU). En este trabajo, utilizando el bioensayo ya descrito (Acta Physiol Pharmacol Latinoam. 38:1, 1988), se amplió el estudio para investigar si dosis inferiores de FU a las anteriormente empleadas permitirían descubrir un efecto inhibitorio de PU y además esclarecer si la inhibición de la diuresis podría ser causada por un efecto osmótico y transferencia de líquido a la cavidad peritoneal, donde era inyectado PU. Para lograr esto, se midió sistemáticamente, la osmolaridad, el Na, K y volumen del líquido i.p. como también en de los preparados inyectados; además se utilizó como control, ratas que en vez de PU recibieron un hidrolizado de albúmina plasmática humana (ALB), sometida a idéntica manipulación y de similar osmolaridad, Na, K y volumen como PU. La cantidad tanto de PU como ALB inyectada i.p. fue la correspondiente a 0,5 ml de plasma humano por 100 g/peso. Los resultados confirman que a diferencia de PU, la ALB no inhibe a la AT, pero que ni PU ni ALB contrarrestan la acción diurética de FU administrada esta i.v. en dosis de 25,50 y 100 ug por rata. Los resultados excluyen que un factor osmótico intervenga en la diferencia de resultados y favorecen la tesis que PU podría tener un efecto inhibitorio específico sobre AT.

Financiado Proyectos.: DIUC 86/87 y FONDECYT 0383/88.

VARIACIONES EN LA DISTRIBUCION DEL SURFACTANTE ALVEOLAR EN DOS ESPECIES DE MASA CORPORAL SIMILAR. (Variations in alveolar surfactant distribution in two species of similar body mass). Oyarzún, M.J., Dussaubat, N., Lathrop, ME., Morgado, E., Larraín, C. y Zapata, P. Depto. Preclínicas Oriente, Fac. Medicina, U. de Chile y * Lab. Neurobiología, U. Católica de Chile.

Las variables respiratorias morfofuncionales del conejo presentan desviaciones sistemáticas entre los valores medidos y los estimados por ecuaciones alométricas (fR mayor; CPT, diámetro alveolar y masa pulmonar menores), aunque el área de superficie alveolar es similar. Por otra parte, la reserva funcional de surfactante alveolar (SA) es mayor en el conejo que en el gato, relacionándose directamente con la fR e inversamente con el diámetro alveolar, lo cual daría cuenta de estas diferencias interespecie.

Para determinar si las variaciones interespecie en el contenido de SA se asocian a diferentes distribuciones de sus fracciones activas e inactivas, se comparó el contenido de fosfolípidos totales (PLT) en el lavado bronco-alveolar (LBA) y en sus fracciones, obtenidas por centrifugación diferencial, en 6 gatos y 6 conejos normales, anestesiados, a los que se midió sus variables respiratorias funcionales.

El contenido de PLT en el LBA fue significativamente mayor en conejos que en gatos (6.0 \pm 1.5 mg/g pulmón vs. 2.4 \pm 0.7; \bar{x} + DS; p < 0.001). Los porcentajes de la fracción activa P4 y de S4 eran también significativamente mayores en el conejo (p < 0.003 y p < 0.01, respectivamente); el de la fracción celular (P1-2) era significativamente mayor en el gato (p = 0.04) y el de la fracción P3 no presentaba diferencia significativa.

Los resultados sugieren que el conejo no sólo tiene un mayor contenido de SA, sino también una mayor proporción de SA activo que el gato, lo cual dependería de la mayor demanda ventilatoria del conejo.

Financiamiento: FONDECYT, DTI-UCh, DIUC y Gildemeister.

LIBERACION DE 3H-NOREPINEFRINA DESDE CORTES DE CORTEZA CEREBRAL DE LA RATA. EFECTOS DE CLONIDINA EN ANIMALES EN DESARROLLO O SOMETIDOS A DESNUTRICION TEMPRANA. (3H-norepinephrine release from rat cerebral cortex slices. Effects of clonidine on developing animals or under early malnutrition). Gallequillos X., Belmar J., Ferruz J., Hernández A., Ruiz S., Pérez H. y Soto-Moyano R. Lab. de Farmacología-Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos y Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Chile.

En la corteza cerebral (CC) de la rata, la desnutrición temprana afecta su actividad bioeléctrica, los niveles de norepinefrina (NE) y la liberación de 3H-norepinefrina (3HNE) desde cortes de CC. Se ha postulado que desequilibrios de este tipo pueden ser corregidos, o inducidos en una rata normal, por tratamiento con agonistas y/o antagonistas al NT. En este trabajo se presentan los efectos de clonidina (CLO), durante el desarrollo temprano de animales marásmicos y normales, sobre los niveles y liberación del NT desde cortes de CC.

Animales marásmicos y controles fueron tratados desde el día 5 al 16 post-parto con CLO. A los 16 y 45 ds. de edad se obtuvo tejido cortical de la región frontal (CF) y occipital (CO), para determinar los niveles de NE y obtener cortes de 250 de grosor. Estos fueron incubados con 3HNE, y superfundidos con solución Krebs para medir liberación basal o inducida por K⁺.

A los 45 días de edad, los cortes de CF y CO de animales normales liberan menos 3HNE que los de animales marásmicos. Clonidina, disminuyó la liberación de 3HNE y aumentó NE en CO de animales marásmicos, efecto también visto a los 16 días de edad.

Los resultados sugieren una participación de receptores presinápticos en los desequilibrios bioquímicos inducidos por el marásmo o por drogas noradrenérgicas.

Proyecto Fondecyt 29/1988.

INFLUENCIA DE LA EDAD SOBRE LOS COMPONENTES (COGNITIVOS Y SENSORIALES) DEL POTENCIAL EVOCADO AUDITIVO (PEA). (Influence of Sex on Cognitive and Sensory Components of the Auditory Evoked Potential). Corail, J.; Camposano, S. y Lolas, F. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La latencia de los componentes cognitivos del PEA en el adulto aumenta en forma lineal con la edad y con patologías que producen deterioro cognitivo. Con objeto de determinar el efecto diferencial de la edad sobre los componentes sensoriales y cognitivos del PEA se registró 37 voluntarios entre 20 y 75 años en 2 condiciones: atención pasiva y tarea de tiempo de reacción. Se administró 400 estímulos (60 mseg, 80 dB, 1 cada 2 seg), 80% "frecuentes" (EF 750 Hz) y 20% "infrecuentes" (EI 1500 Hz) aleatoriamente en cada condición experimental. Se registró Cz referido a mastoides bilateral (tiempo de registro 710 mseg), promediando separadamente EF y EI. Se midió latencia de componentes N1, P2, N2 y P3 mediante programa cursor.

Latencia del componente N1 no es afectada por la edad, P2, N2 y P3 aumentan su latencia con la edad, siendo mayor el efecto sobre P3. El efecto sobre P2 y N2 es más claro en EI de tarea de tiempo de reacción. Se discuten estos hallazgos en relación al significado funcional de los componentes.

Financiado parcialmente por proyecto FONDECYT

Actividad evocada en áreas auditivas del gato por la estimulación binaural condicionante / prueba usando tonos puros. (Evoked activity on auditory areas of the cat to conditioning - test stimuli using pure tones) Ormeño, S., Adrián, H., Castillo, A., Paredes, C. y Pinto, M. Depto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Se utilizan gatos adultos anestesiados con Nembutal (42 mgr/Kg) I.P. Se comparan los registros de las áreas auditivas AI y AII. Los registros representan al promedio de 20 potenciales consecutivos evocados por estimulación del oído Ipsilateral (OI), contralateral (OC) o de ambos oídos simultáneamente (AO). Si se estimuló al OC como condicionante, se aplicó al OI un estímulo de prueba retardado en pasos de 10 mseg. y viceversa. Cuando el intervalo entre ambos estímulos fue menor de 10 ms. se produjo, en la mayoría de los registros, una total supresión de la respuesta al estímulo de prueba. La supresión iba desapareciendo en la medida que era aumentado el tiempo interaural. El estímulo test fue retardado hasta la completa recuperación de la segunda respuesta. Se comparan los tiempos de supresión total y de recuperación de la segunda respuesta en ambas áreas auditivas al estimular tanto con OC como con OI como condicionante. Los tiempos de recuperación de la segunda respuesta en ambas áreas fueron siempre más largos cuando OC era condicionante, y esta supresión en AII fue más breve que en AI. Se discutirá el rol que tendrán las diferencias funcionales encontradas.

CLASIFICACION DE CELULAS HORIZONTALES (CH) DE LA RETINA DE CARPA (Cyprinus carpio) MEDIANTE CRITERIOS MORFOLOGICOS CUANTITATIVOS. (Classification of horizontal cells of carp retina by means of quantitative morphological criteria). Bustamante, S. y Gutiérrez, Q. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Las CH son neuronas de segundo orden dispuestas transversalmente entre las capas granular y plexiforme externas de la retina de vertebrados. En Carassius (pez dorado) se ha clasificado a las CH en tres clases morfológicas (H1, H2 y H3), según el tamaño relativo del soma y la extensión del árbol dendrítico. Las respuestas de CH de carpa ante estímulos cromáticos también han sido clasificadas en tres tipos, sugiriéndose una relación morfología-respuesta válida para todos los teleosteos. Puesto que la forma irregular de las CH introduce en la clasificación morfológica un grado de subjetividad cuestionable, hemos ideado un índice eidométrico ($I_e = (P/2J(\pi \cdot A))$) que permite determinar objetiva y cuantitativamente el aspecto de una CH. En retinas de carpas vivas se marcaron 242 CH con HRP. Fueron dibujadas en cámara lúcida y su contorno digitalizado (software ARC INFO). Se midió el perímetro P y el área A para calcular I_e . El histograma de frecuencias de I_e reveló una distribución bimodal, con un modo ajustado a un tipo lognormal y otro en el límite de significación del test de Kolmogorov-Smirnov para la misma distribución. Estos resultados se compararon con los I_e obtenidos de micrografías de CH publicadas para apoyar la clasificación vigente. Se concluye que en la retina de la carpa hay sólo dos poblaciones de CH, una que incluye al tipo H1 y otra, a H2 con H3. Se sugiere, en base a estos resultados, que la morfología de las CH es especie dependiente y que la relación forma-respuesta para la carpa debe ser revisada.

Proyecto FONDECYT 89-1131.

EFFECTO DE UN COMPONENTE SOLUBLE DE Microcystis sp. SOBRE LA INCORPORACION CELULAR DE HIERRO. (Effect of a soluble component from Microcystis sp. on the iron incorporation to the cell).

Rojas, C.M., Núñez, M.T., Zambrano, F. y Peñaloza, R.* Depto. Biología, Facultad de Ciencias, U. de Chile y *U. Metropolitana de Ciencias de la Educación.

Muerte esporádica de peces se ha observado en la Laguna de Aculeo, la cual ha sido coincidente con una proliferación excesiva de la microalga Microcystis sp. Un principio con características tóxicas ha sido obtenido después de un proceso de purificación a partir de un homogenizado de fitoplancton de la laguna. Esta toxicidad se manifiesta sobre un bioensayo en Daphnia magna y sobre Gambusia affinis y organismos unicelulares de la laguna. La fracción soluble tóxica obtenida finalmente por filtración a través de biogel P2, tiene un P.M. de alrededor de 1000 y presenta un máximo de absorción a 205 nm.

Con el objeto de establecer una posible acción de este principio tóxico a nivel celular, se estudió su efecto sobre el proceso de incorporación de hierro en reticulocitos de conejo. Este proceso tiene lugar mediante un mecanismo de endocitosis mediada por receptor, en el cual transferrina, proteína transportadora de hierro del suero, juega un rol fundamental.

Los resultados indican que el principio soluble bloquea la incorporación celular de hierro, afectando la etapa de internalización de transferrina. La etapa de externalización, en cambio, no se vio afectada.

Próximos estudios podrán determinar si este principio tóxico afecta procesos de endocitosis celular, o si está comprometida otra vía del proceso.

Financiado por Proyectos FONDECYT y D.T.I., Universidad de Chile.

POSIBLE ROL REGULADOR DE HIPOTHAURINA COMO ANTIOXIDANTE EN LA REGULACION DE LA HIPOXIA CELULAR. Cañas, P.E., Guerra, R. y Valenzuela, A. INTA, Casilla 15138, Santiago 11, Chile.

Tanto la taurina como la hipotaurina parecen tener roles importantes en algunas funciones celulares, ya sea en la conjugación de algunos xenobióticos como en su función osmorreguladora. Nosotros hemos estudiado la función de ambos aminoácidos en su función como antioxidantes usando un sistema de lipoperoxidación de homogenizado de cerebros, midiendo la quimioluminiscencia residual como una medida de la inhibición de la lipoperoxidasa o de su capacidad de antioxidante. Los resultados demuestran que ambos compuestos tienen una capacidad distinta de protección de la lipoperoxidación, siendo la hipotaurina un antioxidante más potente comparado con la taurina.

Estos resultados pueden relacionarse con los efectos protectores de la hipoxia que se han descrito para la taurina, especialmente en el cerebro, aunque algunas personas han asociado estos efectos de algunos de estos aminoácidos con la regulación del metabolismo del Ca^{++} . En este trabajo se discuten ambas posibilidades.

Proyecto financiado por CONICYT 0186-88 U. de Chile.

INFLUENCIA DEL HABITO DE FUMAR EN EL EMBARAZO Y LA LACTANCIA MATERNA EN ARICA. (Influence of smoking on pregnancy and lactation in Arica). Cabello, G., Hrepic, N., Astudillo, I., Benitez R., Ortega, L., Poblete, S., Ramos, R., Saavedra, M. Depto. de Biología y Salud y Depto. de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Tarapacá.

Se ha demostrado que el hábito de fumar en el embarazo produce una mayor predisposición al bajo peso materno, aborto, placenta previa, desprendimiento prematuro de placenta, síndrome hipertensivo del embarazo y parto prematuro. El hijo de madre fumadora tiene una mayor probabilidad de presentar: retardo del crecimiento intrauterino, bajo peso de nacimiento, alteraciones pulmonares e incluso cáncer intrauterino. En los lactantes existe un mayor riesgo de presentar enfermedades alérgicas, asma bronquial, bronquitis crónica y cáncer pulmonar.

El objetivo de este trabajo fue determinar la influencia del hábito de fumar sobre la duración de la lactancia. La muestra considerada fue de 323 madres que tuvieron su parto entre Enero y Abril de 1988 y que controlaron su embarazo en los consultorios periféricos Víctor Bertín Soto, Abel Garibaldi y Oscar Bonilla de Arica. Se logró encuestar al 75% de ellas.

Se investigó acerca del hábito de fumar de las madres, la duración de la lactancia y las variaciones de peso en los niños. El 32,5% de las madres encuestadas eran fumadoras activas y de ellas el 47,4% fumaron durante el embarazo y el 95% reiniciaron el hábito de fumar durante la lactancia. En las madres fumadoras activas se encontró una disminución significativa en la duración de la lactancia materna exclusiva de 3,5 meses a 2,6 meses ($p < 0,05$) y en la duración total de la lactancia de 5,3 meses a 4,2 meses ($p < 0,01$).

LEUCOCITO Y DAÑO ENDOTELIAL INFLAMATORIO. POSIBLE ROL DE LOS OXIDANTES DERIVADOS DEL OXIGENO (Leucocyte and inflammatory endothelial damage. Possible role of oxygen derived oxidants). Mancinelli, S.; de la Fuente, G.; Pinto, N.; Acuña, J.; Manríquez, M.V. Depto. Cs. Fisiol., Pac. Cs. Biol. y de Rcs. Nat. U. de Concepción.

En la respuesta inflamatoria se destacan dos componentes activos. El primero es la participación de la microvasculatura y el segundo el rol de los leucocitos. Ambos elementos están íntimamente relacionados y es posible afirmar que la respuesta inflamatoria se inicia dentro del vaso sanguíneo. Durante muchos años se afirmó que la integridad del endotelio vascular era respetada por el leucocito en su paso hacia los tejidos; sin embargo, los estudios de microscopía electrónica revelan cambios morfológicos, inicialmente sutiles, pero que pueden llegar a ser muy severos.

Con el fin de determinar el origen de estas lesiones endoteliales se diseñó un modelo experimental en perro: la injuria fue calor (75 °C) aplicado por 6 seg. en la cara interna de la mejilla. Se obtuvo biopsias entre 5-6 hrs. después de inducido el daño; (tiempo que fue de terminado como el más apropiado después de ensayos preliminares). La cuantificación del daño endotelial se hizo con MEB, tomando para cada biopsia 3 fotografías del interior de un vaso venoso pequeño y midiendo la superficie dañada versus el endotelio aparentemente sano. Siempre se empleó un aumento de 3000 X. Se ensayó diversas drogas antiinflamatorias y además, se utilizó inhibidores de la activación de leucocito (azapropazona) inhibidores de peróxido de hidrógeno (catalasa) y bloqueador de la xantina oxidasa (alopurinol).

Los resultados revelan que en el daño endotelial encontrado en el modelo experimental utilizado, los leucocitos y posiblemente la propia célula endotelial jugarían un rol importante. Este daño parece estar mediado por la acción de oxidantes derivados del oxígeno.

Proyecto N° 211105; Dirección de Investigación Universidad de Concepción.

PARTICIPACION DE OXIDANTES DERIVADOS DEL OXIGENO (ODO) EN DOS MODELOS EXPERIMENTALES DE INJURIA PULMONAR (Involvement of oxygen free radicals in two experimental models of lung injury). Borzone, G., Klaassen, R., Valdivia, E. Departamentos de Ciencias Fisiológicas y Anatomía Patológica, Universidad de Concepción.

Con el fin de estudiar la posible participación de los oxidantes derivados del oxígeno en el proceso inflamatorio pulmonar inducido tanto por sílice como por bleomicina se estudiaron cortes histológicos de pulmones de ratas a las cuales se les indujo daño por uno de estos agentes, con y sin la administración previa de catalasa o de superóxido dismutasa.

Se indujo silicosis por inyección intratraqueal de cristales de sílice de 5 micrones de diámetro. La característica reacción granulomatosa estuvo presente 7 días post inyección; la administración intraperitoneal de 20 mg/Kg de catalasa o de 20 mg/Kg de SOD 30 minutos antes produjo disminución de lesiones en 25% de los animales y ausencia de lesiones en otro 25%.

La administración de 1,5 U/Kg de bleomicina intratraqueal por su parte, indujo una reacción inflamatoria con predominio de polimorfonucleares que aumentó en intensidad hasta el día 8. La administración de catalasa o de SOD en igual forma que para silicosis no modificó la evolución de las lesiones pulmonares. Si bien en ambos modelos era dable esperar participación de los ODO, los resultados obtenidos permiten postular que esto parece ser efectivo sólo para silicosis y que al menos en las etapas iniciales del daño por bleomicina los ODO no tendrían participación.

Proyecto Fondecyt N° 89-695

VASCULITIS NECROTIZANTE EN CONEJOS CONSECUENTE A LA INTERACCION DE EPINEFRINA O DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL, (TNF). (Necrotizing vasculitis in rabbits as a consequence of the interaction of epinephrine or of tumor necrosis factor). Ward, P.H., Moreno, M., Maldonado, M., Rojas, S., y Yivaldi, E. Depto. de Ciencias Fisiológicas. Fac. Cs. Biol. y Rec. Nat. Universidad de Concepción.

Con el fin de analizar algunos aspectos relacionados con el mecanismo de acción de la endotoxina (Etox) bacteriana, se ha estudiado, con anterioridad la respuesta tisular consecuente a la interacción epinefrina-endotoxina. Se demostró que la administración endovenosa de microgramos de Etox, seguida de la inoculación intradérmica de 0.1 ml de una solución de epinefrina al 1/100, en el abdomen rasurado del conejo, determina, dentro de las 24 hrs siguientes la aparición de una lesión hemorrágico-necrótica en el lugar de la inoculación de la epinefrina. Esta alteración puede prevenirse mediante la administración previa de "scavengers" de los oxidantes derivados del oxígeno administrados por vía local o sistémica.

Se ha descrito una estrecha relación entre TNF y Etox lo que nos indujo a repetir los experimentos, ahora administrando TNF, a dosis variables. Nuestros resultados demuestran que el TNF es capaz de inducir una respuesta idéntica a la causada por Etox, pero que, al parecer, ésta se produciría en un tiempo menor al observado con la Etox.

Se están realizando estudios comparativos para comprobar las diferencias histológicas y evolutivas entre las vasculitis inducidas por TNF y por Etox, así como los cambios posibles en relación a la respuesta que en ambos casos se debe esperar por la administración de "scavengers" de los oxidantes derivados del oxígeno.

PROYECTO FONDECYT Nº 89-695.

IMPLANTACION: UN PROCESO POSIBLEMENTE MEDIADO POR ACTIVIDAD BETA ADRENERGICA. (Implantation: a process possible mediated by beta adrenergic activity). Bruzzone, M.E. y Chávez, M. Depto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile.

Hasta el momento no están claros los mecanismos por los cuales se produce la implantación. Dentro de la serie de eventos endocrinos que participan en este proceso podría estar involucrado el sistema simpático beta adrenérgico. Al respecto hemos estudiado en la rata, el efecto de distintos beta bloqueadores, algunos con acción estabilizadora de membrana (MSA): DL-propranolol y Oxprenolol, otros con MSA débil: Atenolol y otros sin MSA: Nadolol y Timolol, en concentraciones crecientes de 4 a 150 mM.

Se utilizaron ratas hembras adultas de la cepa Sprague Dawley, las cuales fueron cruzadas con machos normales en la tarde del proestro. El día 1 postcoital a las 14:00 hrs, los distintos grupos experimentales fueron tratados con los beta bloqueadores a través de instilación intrauterina en el cuerno uterino derecho. El cuerno izquierdo instilado con suero fisiológico fue utilizado como control. Al noveno día, las ratas fueron laparotomizadas para cuantificar el número de embriones implantados en ambos cuernos uterinos.

Se encontró que DL-propranolol y Nadolol fueron capaces de inhibir la implantación en forma dosis dependiente, no así los otros beta bloqueadores. Este efecto se debería a la potencia como beta bloqueador y no a la MSA.

Financiado por Proyecto OMS.

RESPUESTA CARDIORRESPIRATORIA DEL CABALLO DE TIRO AL EJERCICIO (Cardiorespiratory response of draught horses to exercise). Quijada, G., Jara, C., Mora, G., Islas, A., Reyes, F., Candia, B. Ibañez, M.; Pérez, R.*. *Depto. Medicina Veterinaria y Depto. Ing. Agrícola FACAFA. Universidad de Concepción.

Con el objetivo de establecer la relación entre la fuerza de tracción y la respuesta fisiológica al trabajo, se sometieron a ejercicio 5 caballos seleccionados según aptitud de tiro.

Se utilizó un carro de arrastre equipado con dinamómetro para medir fuerza de tiro y de un odómetro para registrar distancia recorrida. Mediante variaciones en la carga sobre el carro se realizaron 3 tipos de ejercicio. Carga liviana (L) 950 kg peso total (tara + carga); Carga media (M) 1900 kg y carga pesada 3.000 kg (P). En cada animal se registró frecuencia cardíaca (FC), frecuencia respiratoria (FR) y temperatura rectal (T_{re}). También, se midió pH y gases sanguíneos arteriales y venosos. Los registros se hicieron en condiciones de reposo (R), inmediatamente después de finalizado el ejercicio y 30 min. post-ejercicio.

Los resultados fueron: (X ± D.S)

	R	L	M	P
FC (1/min)	41,0 ± 5,0	59,0 ± 4,0*	64,0 ± 7,0*	91,0 ± 17,0*
FR (1/min)	27,0 ± 7,0	46,0 ± 8,0*	44,0 ± 6,0*	57,0 ± 17,0*
pHa (U)	7,42 ± 0,08	7,47 ± 0,04	7,45 ± 0,03	7,45 ± 0,02
PaO ₂ (mmHg)	96,4 ± 3,9	90,3 ± 6,4	87,6 ± 7,0*	79,8 ± 5,2

* P 0,05 vs R.

Durante el ejercicio se observa aumento de FC y FR proporcional a la fuerza de tracción. Hay aumento en el contenido de O₂ arterial por aumento en los niveles de hemoglobina a pesar de la caída de la PaO₂. También hay aumento de la T_{re} rectal durante el ejercicio. La FC y FR se recuperan a valores de R 30 min. post-ejercicio. La PaCO₂ no mostró cambios significativos durante el ejercicio.

Financiado por Proyecto FONDECYT 744-88

CAMBIOS HEMATOLOGICOS POR EJERCICIO, EN EQUIPOS DE TIRO (Haematological changes in draught horses, during the exercise)* Mora, G., Islas, A., Pérez, R., Jara, C., Latorre, F., Ibañez, M., Metz, E.; Candia, B.; Reyes, F.; *Depto. Medicina Veterinaria, *Depto. Ing. Agrícola. Fac. Cs. Agropecuarias y Forest. Universidad de Concepción.

Con el objetivo de determinar el efecto de una tracción continua de distintos pesos sobre algunos valores hematólogicos, se realizó este trabajo en 5 equinos de tiro. El ejercicio consistió en traccionar durante 1.500 mt., un carro adaptado especialmente con pesos equivalentes a 946 ± 37; 1980 ± 29 y 3000 ± 36 kg respectivamente. Todos los arrastres fueron realizados sobre una misma pista de riopio. Cada animal realizó dos veces el recorrido en días distintos y en cada oportunidad se obtuvieron muestras sanguíneas por cateterización yugular en jeringas heparinizadas. Se colectaron muestras basales, inmediatamente después y a los 30 minutos posteriores. En cada una se determinó volumen globular aglomerado (VGA); número leucocitario (NL); proteínas plasmáticas totales (PPT) y concentración de hemoglobina (Hb).

Los valores de VGA y Hb presentaron un aumento significativo (p < 0,05) inmediatamente después de completar los ejercicios, retornando a sus valores originales a los treinta min. posteriores. Las PPT si bien no se alteraron con los pesos bajo y mediano, subieron en forma significativa con el mayor peso al término del recorrido y luego retornan a sus valores basales. El NL se elevó significativamente al momento de finalizar la prueba de tiro con los tres tipos de carga utilizados.

Financiado por proyecto FONDECYT 744-88

EFFECTO DE FUROSEMIDA (Fu) Y ATRIOPEPTINA II (Ap) EN LA ENTREGA DE CALICREINA GLANDULAR AL PLASMA (Kpl) Y ORINA (Ko) EN RATAS HIPERTENSAS UN RINON-UNA PINZA (GIR). Effect of furosemide and atriopeptin II on glandular kallikrein release to plasma and urine in one kidney one clip hypertensive rats. Candia, S., Albertini R., Boric M. Depto. Ciencias Fisiológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

En ratas uninefrectomizadas, Fu y Ap estimulan la Ko y deprimen la Kpl. En este estudio quisimos saber como responden las ratas hipertensas GIR a estos mismos estímulos. Se usaron ratas hembras 6 semanas post-operación, anestesiadas e infundidas con Sol. Salina (Sa) (1.2 ml/hr). La orina se recolectó por períodos de 20 min a través de una sonda uretral. Después de 60 min de comenzar la infusión se inyectó i.v. Fu (25 ug/100 g), Ap (5 ug/100 g) ó Sa (300 ul/rata). Al término del último período basal y 10 y 30 min post inyecciones, se tomó 3 ml de sangre de la vena renal, reponiendo este volumen desde un animal donante. La calicreina se midió por RIA. Los resultados fueron:

Calicreina en la orina (Ko)			
(ngBK/min)	Basal	20 min	40 min
Sa	29.3±6.0 (6)	17.8±4.9 (8)	16.3±5.2 (8)
Fu	22.5±3.4 (6)	90.6±21.3 (6)*	41.4±20.4 (6)
Ap	14.8±4.2 (7)	51.2±22.9 (6)	37.2±14.3 (6)
Calicreina glandular en el plasma (Kpl)			
(ngBK/ml/hr)	Basal	10 min	30 min
Sa	13.8±1.8 (8)	18.4±2.8 (7)	14.6±1.8 (8)
Fu	13.0±2.2 (6)	13.5±1.9 (6)	11.8±2.0 (6)
Ap	11.5±1.6 (7)	12.0±2.8 (7)	13.6±2.3 (7)

BK=Bradicinina, *P<0.01 respecto al período basal, (n)=número de experimentos, x ± SE.

Estos resultados sugieren que en este modelo de hipertensión arterial la Fu y la Ap mantienen su acción de regulación de la secreción de Ko, la que podría estar involucrada en la respuesta diurética, mientras que los mecanismos de regulación de la secreción de Kpl se hacen refractarios a ambas drogas.

Financiado con Proyecto FONDECYT 1127/86.

EFFECTO DEL K⁺ EXTERNO EN LA CONDUCTA NATATORIA DE LARVAS DE C. concholepas (Effect of external K⁺ on swimming behaviour in the C. concholepas larvae). Foster, R., Brandan, E., González-Plaza, R., Campos, E.O., González, M. e Inestrosa, N.C. Dpto. Fisiología, Fac. Medicina, U. de Chile y Unidad de Neurobiología Molecular, Fac. Cs. Biológicas, P. U. Católica de Chile.

El ión potasio (K⁺), puede iniciar el asentamiento y metamorfosis de larvas planctónicas de varios invertebrados marinos. Hemos iniciado experimentos en larvas de C. concholepas con el propósito de establecer: 1) si en esta especie hay efecto en la conducta natatoria al aumentar la concentración externa de K⁺ en agua de mar artificial, y 2) si otros iones juegan algún papel en este fenómeno. La conducta natatoria fue estimada determinando el % de larvas sedimentadas, usando un microscopio de inversión. Al aumentar la concentración de K⁺ externo de 15 a 30 mM K⁺ se observó de un 16 a un 30% de pérdida en esta conducta siendo de un 93% a 40 mM; efecto que es revertido al volver las larvas a 10 mM K⁺. Con el objeto de estudiar si el ión calcio juega algún papel en el efecto observado, se incubaron larvas con el ionóforo de calcio A23187 (10⁻⁸-10⁻⁴ M) observándose una pérdida gradual de la conducta (12-48%).

Estos resultados sugieren que es posible controlar experimentalmente la conducta natatoria de larvas veligeras de C. concholepas, por modificación en la concentración del ión K⁺ en el medio externo y, probablemente, de calcio en el medio interno. (FONDECYT-Sectorial "Loco"; IFS A-1407-1).

REGULACION DE CALICREINA RENAL POR HORMONAS ADRENALES: ESTUDIO MORFOFUNCIONAL (Regulation of renal kallikrein by adrenal hormones: a morphofunctional study.) M.P. Boric, J.S. Roblero, S. Loyola y C.P. Vio. U. de Regulación Neurohumoral, FCCBB, P. Universidad Católica de Chile.

Existe controversia acerca del tipo de esteroides adrenales que regulan la producción, liberación y activación de calicreina renal. Estudiamos estos procesos en el animal in vivo, en su riñón aislado y en células productoras de calicreina.

Se usaron cuatro grupos de ratas S.D. machos (220-250 g): control (C, n=6), adrenalectomizadas (Ax, n=7), y Ax suplementadas con dexametasona (DEX, n=7) o desoxicorticosterona (DOC, n=9). A la semana se colectó orina in vivo y luego se perfundió el riñón derecho por 1 hr. (Am.J.Physiol. 231: 1383, 1976). La actividad cininogénica de calicreina activa (K) y procalicreina (ProK) se midió en orina de 24 hrs (U₂₄) y en orina (U) y perfusado (P) renal. Los riñones contralaterales se fijaron y procesaron con inmunohistoquímica anticalicreina renal (Kidney Int. 28:36, 1985). El área seccional (AS) de las células teñidas se midió con un digitador Apple Graphics. Resultados:

U ₂₄ K(10 ³ Bu)	UK(Bu/min)	PK(Bu/60ml)	AS(um ²)	
C	198.5±14.9	61.7±6.54	5.00±0.92	100.3±2.7
Ax	75.5±12.4*	18.5±2.40*	0.30±0.32*	88.7±3.9*
DOC	159.2±15.2*	42.3±5.86**	0.73±0.38*	78.0±2.0**
DEX	61.5±12.9*	40.4±9.31**	0.50±0.35*	145.1±5.9**

Bu=(ngBK/min); *p<0.05 vs C; **p<0.05 vs Ax; ANOVA. Ax disminuyó U₂₄K, UK, PK y el tamaño de células productoras. DOC normalizó la excreción in vivo y parcialmente UK; pero no aumentó la liberación al perfusado, ni AS, que fue menor que en Ax. DEX actuó igual que DOC en riñón aislado; pero sin efecto en U₂₄K y aumento notablemente AS de células conectoras. La excreción de ProK fue paralela a la de K en U₂₄, U y P. En todos los grupos, la proporción de ProK fue mayor en el perfusado (90% del total) que en la orina (40%). Estos resultados indican que los corticoides 1) aumentan liberación de K en orina pero no al perfusado, 2) no afectan la activación de la enzima, 3) tienen efecto diferencial sobre el tamaño de las células conectoras, el que no está necesariamente asociado con síntesis o recambio de K. 4) La activación de K está polarizada hacia la orina. FONDECYT 741/87 y 346/89.

ROL DE LA INSULINA ENDOGENA EN LA HOMEOSTASIS DE K EN RATAS NORMALES Y UREMICAS. (Rol of endogenous insulin on K homeostasis in normal and uremic rats).

Goecke, I., Alvo, M. y Marusic, E.T. Dept. de Fisiología y Biof., Fac. Medicina, U. de Chile.

Se estudió, el rol de la insulina endógena en el manejo extrarrenal del potasio, en ratas normales y urémicas (nefrectomía 5/6, creat. plasmática 2.2 ± 0.45). Con este propósito se realizaron dos protocolos diferentes:

a) Se administró una carga oral de K (3.5 mM/K.) con o sin glucosa (2g/K.), tomándose muestras de sangre a los 30, 60, 90 y 120 min. b) Se infundió somatostatina, un potente inhibidor de la secreción de insulina, (6 ug/K/min.) durante 90 min., midiéndose el K plasmático cada 30 min. Los resultados se expresaron como ΔKmax. Las ratas urémicas, frente a la carga oral de K, alcanzaron un valor de 3.35 ± 0.6 y las normales 1.73 ± 0.07 meq/L (p<0.01). Cuando el K fue administrado con glucosa, los valores fueron 1.35 ± 0.7 en las ratas urémicas y 0.52 ± 0.18 meq/L en las controles (p<0.01). Estos resultados muestran un diferencia significativa en el K plasmático en presencia de glucosa, lo cual pone de manifiesto el importante rol regulatorio de la insulina en él. Cuando ambos grupos de ratas, recibieron una infusión de somatostatina en condiciones basales, el K plasmático aumentó 0.28 ± 0.04 meq/L en el grupo control, comparado con 1.09 ± 0.15 meq/L en las ratas urémicas (p<0.0001). Se puede concluir que la insuficiencia renal crónica se asocia con un daño en el manejo extrarrenal del K y la estimulación de la secreción de insulina por ingesta de carbohidratos, lo mejora tanto en ratas urémicas como normales; mientras los niveles de insulina endógena, pueden tener un rol más importante en la mantención del K plasmático basal en la uremia.

(Trabajo financiado por FONDECYT y DTI.).

RECEPTORES COLINERGICOS EN PIEL DE SAPO. (Cholinergic receptors in the toad skin). Sobrevia, L.; Quevedo, L.; Alarcón, J. y Concha, J. Dpto. de Cs. Fisiológicas. Universidad de Concepción. (Patrocinio: L. Quevedo).

En piel abdominal aislada de *Pleurodema thaul* se ha demostrado la existencia de receptores β -adrenérgicos pero no se ha descrito la presencia de receptores colinérgicos en esta preparación. Este trabajo presenta algunas evidencias que involucran la participación de estos receptores en el transporte iónico transepitelial en *P. thaul*. La administración de acetilcolina al medio serosal modificó el transporte de sodio generando variaciones en la diferencia de potencial transepitelial (DP) y la corriente de corto-circuito (CCC) presentándose dos fases: una elevación de estos parámetros, seguida ésta de una disminución. Efectos similares produjo la adición de muscarina en este medio. Muscarina, GMPc y Ca^{++} parecen estar relacionados con el aumento de los parámetros medidos. La administración previa de atropina serosal (5×10^{-6} M) o de Ringer sin calcio bloqueó el efecto de aumento de DP y CCC producido por acetilcolina. Esta inhibición también es observada al bloquear los canales de sodio con amilorida mucosal. Los resultados obtenidos permiten postular la existencia de receptores colinérgicos muscarínicos cuya activación generan la primera etapa de las respuestas a acetilcolina en esta preparación, provocando un aumento de los niveles intracelulares de Ca^{++} y GMPc los que están directamente relacionados con la generación de esta primera fase. Los mecanismos causantes de la segunda fase de la respuesta no se conocen.

Proyecto DI. 20.33.41, Universidad de Concepción.

CAPTACION LUMINAL DE AMINOACIDOS EN ESTOMAGO DE RATA. (Luminal uptake of aminoacids in rat stomach). Fuentes, O., Sobrevia, L., Depolo, P. y Moreno, C. Laboratorio de Fisiología. Universidad del Bío-Bío. Campus Chillán.

Recientemente demostramos que conocidos sistemas de transporte de aminoácidos neutros operan a nivel de la interfase sangre tejido en estómago perfundido de perro y a nivel luminal del mismo órgano. Se utilizó una cámara de Rham en la cual, un segmento del cuerpo secretor del estómago de rata con su circulación sanguínea intacta es expuesto a 6 ml de suero salino. La captación del aminoácido marcado (H^3) se calcula en relación a una molécula no absorbible (Inulina- C^{14}) o Na^{22} puestos en la cámara. La captación para triptofano y alanina tritizados en presencia de Na^{22} fue de 13.2 ± 7.3 y $25 \pm 8.5\%$ ($M \pm D.S.$) respectivamente y la captación de triptofano- H^3 en relación a inulina- C^{14} no difiere significativamente (11.3 ± 5.2). En experimentos en los que se pone solo el aminoácido marcado en la cámara se ha observado el siguiente decaimiento ($\%C/10$ minutos) para triptofano, serina y alanina: 4.3 ± 1.7 , 3.7 ± 1.1 y $4.8 \pm 2.5\%$ respectivamente. La marca radioactiva presente en la mucosa gástrica y en la sangre del animal sugieren que los aminoácidos o metabolitos de estos están presentes allí. La adición de aminoácidos sin marca disminuyen la captación de tritizados en experimentos preliminares.

Proyecto interno. D. I. Universidad del Bío-Bío.

EFEECTO DE 4-HIDROXI-3-(ISOPENTEN-2-IL)-ACETOFENONA (SG4) EN CINTAS DE TRAQUEA Y ARTERIA DE RATA (Effect of 4-hidroxy-3(isopenten-2-yl)-acetophenone (SG4) in rat tracheal and arterial strips.) Araya, B., Depix, M.S., Briceño, K. y Cortes, P. Depto. Ciencias Biológicas. Universidad de Antofagasta.

El SG4 es un metabolito extraído del senecio graveolens (Chachacoma) vegetal autóctono de la precordillera de la II Región, usado tradicionalmente para aliviar los trastornos de la puna. Químicamente, es un derivado de p-hidroxiacetofenona, al igual que otros metabolitos extraídos del vegetal (SG1 y SG2).

Evidencias anteriores obtenidas con el derivado SG1, muestran un efecto vasodilatador, broncodilatador, natriurético y kaliurético etc. en diferentes modelos biológicos. En el presente trabajo estudiamos el efecto del metabolito SG4 en cintas de tráquea y arteria de rata. Mediante poligrafía, en baño de órgano termorregulado con solución Tyrode, burbujeada constantemente (O₂ 95% y CO₂ 5%), se evaluó el efecto del SG4 a diferentes dosis, utilizando como compuesto de referencia Salbutamol (agonista beta-2 adrenérgico), determinando el % de relajación.

Los resultados indican un efecto relajador del SG4 dosis-dependiente, el cual disminuye significativamente en presencia de Propanolol (antagonista beta-adrenérgico).

Estas evidencias señalan que el mecanismo de acción, de las p-hidroxiacetofenonas obtenidas del senecio graveolens, estaría mediado por el sistema beta-adrenérgico, provocando la relajación del músculo liso (tráquea-arteria) de rata, comportamiento similar al Salbutamol.

FINANCIAMIENTO: DGIEXAT. Universidad de Antofagasta.

ALTERACION DEL ACOPLAMIENTO EXCITACION-CONTRACCION EN LA FATIGA MUSCULAR (Excitation-Contraction coupling is altered in muscle fatigue). Ramirez B.U. Departamento de Enfermedades Respiratorias, Facultad de Medicina, Universidad Católica.

Los músculos fatigados recuperan su capacidad para desarrollar tensión después de un período de reposo. Esta recuperación es lenta y se desconocen los mecanismos involucrados en ella.

En ratas adultas anestesiadas se estimuló indirectamente ambos sóleos. Se registró la tensión isométrica y el potencial de acción (EMG) muscular. Se usó un patrón de estimulación que producía fatiga (60% Ti) sin alterar la excitabilidad y luego se midió la recuperación de la fatiga aplicando el estímulo fatigante después de un período de reposo o de estimulación (carga).

En 1 hora de reposo los músculos recuperaron 80-90% Ti (n=9). Con una carga igual al estímulo fatigante los músculos se mantuvieron fatigados (n=5). Una carga menor sostenida por 1 hora desarrolló tensiones altas (112% Ti, n=6), pero la aplicación del estímulo fatigante provocó inmediatamente fatiga muscular.

Esto sugiere que la actividad contráctil después de un período de fatiga retarda la normalización de la función muscular. Ya que tanto la excitabilidad como la capacidad de desarrollar tensión aparecían normales, la alteración debe residir en el acoplamiento excitación-contracción.

Financiado por FONDECYT (Proyecto 412/88).

NUEVAS EVIDENCIAS PARA UN ROL DEL INOSITOL TRIFOSFATO EN MUSCULO ESQUELETICO. (New evidences for a role of inositol trisphosphate in skeletal muscle). Rojas, C., Sánchez, X., Carrasco, M.A., Hidalgo, C., y Jaimovich, E. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, y C.E.C.S.

El inositol trifosfato (IP_3) ha sido propuesto como mensajero químico en el acoplamiento excitación-contracción en músculo esquelético (Vergara y cols. PNAS. USA. 82, 6352, 1985, Voipe y cols. Nature 316, 347, 1985). En contra de esta hipótesis se ha planteado que 1) el efecto de IP_3 sería demasiado lento para tener significado fisiológico; 2) la fosfatasa que degrada IP_3 estaría virtualmente ausente en músculo esquelético; 3) la heparina, un inhibidor del efecto de IP_3 en otros sistemas no inhibe el acoplamiento excitación-contracción (Somlyo y Cols. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. 320, 399, 1988).

Utilizando membranas aisladas de músculo hemos encontrado una importante actividad IP_3 fosfatasa que está enriquecida en membranas de túbulo transversal (T-T) y también está presente en retículo sarcoplasmático. El efecto de IP_3 sobre la liberación de Ca^{++} en fibras permeabilizadas es 2 ordenes de magnitud más rápido que el medio indirectamente con otros métodos (tiempo medio 58 ms) y está limitado, en nuestro sistema, por la difusión. La heparina no inhibe la liberación de calcio inducida por IP_3 en músculo esquelético, por lo que éste difiere de otros sistemas. Estas evidencias se suman a otras que apoyan un rol del IP_3 como mensajero funcional en músculo esquelético. Aún más, hemos encontrado una dependencia de potencial de la membrana de TT sobre el efecto de IP_3 en fibras permeabilizadas que hace más atractiva esta hipótesis.

Financiado por NIH GM 35981, MDA, Fondecyt y Universidad de Chile DTI.

ACTIVACION DE CANALES DE CALCIO DEL RETICULO SARCOPLASMATICO POR HALOTANO. (Activation of calcium channels of the sarcoplasmic reticulum by halothane). Marengo, J.J. y Bull, R. Depto. Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Halotano es un anestésico volátil capaz de inducir crisis de hipertermia maligna (HM) en individuos susceptibles. Hay consenso que en la HM existe una anomalía en la liberación de calcio por el retículo sarcoplasmático (RS) del músculo esquelético. Vesículas altamente purificadas de RS de *Caudiverbera caudiverbera* fueron fusionadas con bicapas planas de lípidos. Se usó 37 mM Ba como ion transportador de carga y se tamponó el compartimiento citosólico con 100 μ M HEDTA o EGTA.

En condiciones de pCa 6.0, 13 μ M halotano, añadido al compartimiento citosólico, provocó un aumento de la probabilidad de apertura (P_o) del canal de calcio de 0.33 ± 0.05 a 0.70 ± 0.07 ($x \pm SEM$) sin afectar la conductancia. Este cambio se debió a un aumento en las constantes de tiempo abierto de 1.6 y 8.6 ms a 2.6 y 19.4 ms y a una reducción de las constantes de tiempo cerrado de 8.1 y 33.3 ms a 2.5 y 11.3 ms respectivamente. 26 μ M halotano aumentó P_o hasta 0.97 ± 0.01 . Cambios similares pudieron observarse a pCa 6.5, pero usando concentraciones mayores de halotano. Halotano 130 μ M no tuvo efecto a pCa 7.0.

La dependencia de calcio de la activación por halotano sugiere una explicación a la inducción de HM, ya que los individuos susceptibles poseen niveles elevados de Ca citosólico en reposo (López et al. Muscle Nerve 8: 355-358, 1985).

Financiado por Fondecyt 88-972, MDA, NIH GM35981 y Universidad de Chile DTI 2123.

UN CANAL DE K^+ ACTIVADO POR AMPc EN LA LARVA DE *Drosophila melanogaster*. Ricardo Delgado. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Centro de Estudios Científicos de Santiago.

En los músculos longitudinales ventrolaterales de las larvas de la cepa silvestre de *Drosophila*, es posible registrar frecuentemente en la modalidad "cell-attached" de la técnica de "patch clamp", un canal de K^+ con una probabilidad de apertura de aproximadamente un 0.01. Las propiedades de este canal han sido estudiadas separando del músculo el área de membrana celular contenida bajo la pipeta de registro y dejando el lado citoplasmático del canal orientado hacia el baño ("inside-out patches"). Cuando la pipeta se llena con solución 128 mM Na^+ y el baño contiene 150 mM K^+ el ajuste de los datos que describen la curva corriente voltaje del canal abierto con la ecuación de campo constante, da una razón de permeabilidad, $P_{Na}/P_K = 0.1$. La adición de tetraetilamonio al baño a una concentración final de 100 μ M decremente la conductancia del canal de 47 a 23 pS. La probabilidad de apertura es voltaje independiente, pero aumenta 10 veces al exponer el lado intracelular del canal a 60 μ M de AMPc. GMPc, ATP, AMP, IP_3 o Ca^{2+} no tienen un efecto apreciable sobre la probabilidad de apertura del canal. El análisis cinético de la distribución de tiempos abiertos y cerrados en ausencia de AMPc muestra que hay al menos tres estados abiertos y tres estados cerrados. El mismo número de estados se encuentra en presencia de AMPc, pero la amplitud relativa de cada componente cinético es alterada. En presencia de AMPc la frecuencia de tiempos cerrados de larga duración disminuye y aumenta el número de tiempos cerrados de corta duración. El caso contrario ocurre para los tiempos de permanencia en el estado abierto: el número de aperturas de corta duración disminuye y aumentan las aperturas de más larga duración.

Por otra parte en la cepa *dunce* este canal está persistentemente activado, observación que está de acuerdo con el hecho que la mutación *dnc* elimina la actividad de la fosfodiesterasa II, trayendo como consecuencia niveles intracelulares de AMPc anormalmente elevados.

Financiado por NIH grant GM-35981, Proyecto FONDECYT 88/1167 Universidad de Chile DTI grants B-2805/8812 y B-2809/8813.