Trabajos de incorporación

I

EL ANTIGENO DE 90 kDa DE FORMAS METACICLICAS DE *Trypanosoma cruzi*. (90 kDa antigen of metaciclic forms of *Trypanosoma cruzi*).

González, J[1]. y Yoshida, N[2]. 1. Grupo de Parasitología, Universidad de Antofagasta, Antofagasta Chile. 2. Disciplina de Parasitología, Escola Paulista de Medicina, Sao Paulo Brasil.
(Patrocinio: B. Gómez-Silva).

El anticuerpo monoclonal 1G7 reconoce al antígeno de 90 kDa de las formas metacíclicas de *T. cruzi*.

Este anticuerpo monoclonal 1G7 y sus fragmentos Fab son capaces de bloquear la invasión de células Vero por formas metacíclicas de *T. cruzi* (cepas G y Tulahuen), y también opsonizar, aumentando en 6 á 7 veces la endocitosis del parásito por los macrófagos peritoneales de ratón. No obstante el desarrollo intracelular del parásito en células fagocíticas resulta interferido, observándose una significativa reducción de la densidad parasitaria en el período de 72 horas, lo cual es más evidente en el caso de la cepa G.

Los estudios de protección de ratones con antígeno de 90 kDa purificado, mostraron que más del 80% de los ratones inmunizados con 4 dósis de antígeno de 90 kDa e hidróxido de aluminio como adyuvante, resisten la infección aguda, desarrollando parasitemias bajas o subpatentes. Los sueros de estos animales, lisaron tripomastigotes metacíclicos de las cepas G y Tulahuen en presencia de complemento e inhibieron la invasión de células Vero por tripomastigotes de *T. cruzi*.

Estos sueros, inhibieron la ligasón del anticuerpo 1G7 a la glicoproteína de 90 kDa, indicando que contienen anticuerpos que compiten con 1G7 por un mismo sitio topográficamente relacionado en la molécula de 90 kDa.

Estos datos, más la observación de que macrófagos peritoneales de ratones inmunizados con antígeno de 90 kDa inhiben el desarrollo intracelular de *T. cruzi*, sugieren que en la inmunidad inducida por el antígeno de 90 kDa, los anticuerpos relacionados con el anticuerpo monoclonal 1G7, junto a las células fagocíticas, podrían actuar en el control de la proliferación del parásito.

II

EL EFECTO INHIBITORIO DEL NEUROPEPTIDO Y (NPY) SOBRE LA NEUROTRANSMISION DEL CONDUCTO DEFERENTE (CD) ES MODULADO POR LA EDAD Y EL ESTADO HORMONAL DE LA RATA. (Age and castration modulate the inhibitory action of NPY on neurotransmission in the rat vas deferens).

Marcela Bitran. Unidad de Regulación Neurohumoral, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.
(Patrocinio: J.P. Huidobro-Toro).

Para determinar si la acción inhibitoria del NPY sobre la neurotransmisión del CD es regulada por el estado endocrino del animal, estudiamos la acción de NPY sobre la contracción neurogénica del CD de ratas de distintas edades postnatales y de ratas adultas castradas y castradas tratadas con Testosterona (T). El CD se seccionó en sus mitades epididimarias (E) y prostáticas (P), en las que se estudió: a) Contracción muscular inducida por estímulo eléctrico (0.15 Hz, 70V, 1ms) en ausencia o presencia de NPY. b) Contenido tisular de NPY. La potencia de NPY para inhibir la contracción neurogénica en E disminuye con la edad, siendo 20 veces menor en la rata adulta (IC_{50} > 1000 nM) que en la de 26 días (IC_{50} 42 nM). La sensibilidad de P a NPY no cambia marcadamente con la edad. Los niveles circulantes de T en animales de 26 días son significativamente menores que los de animales adultos. La castración reduce el contenido de NPY en E y P; no modifica la sensibilidad a NPY en P, aumentándola en E (IC_{50} 38 nM). La administración de T revierte los cambios de sensibilidad a NPY producidos por la castración. En consecuencia, la acción de NPY sobre las neuronas simpáticas del CD es regulada por el estado hormonal, el que afecta diferencialmente los extremos E y P.

Proyecto FONDECYT 0767/90 y 0748/91.

III

EL ACIDO GLUTAMICO ESTIMULA LA LIBERACION DEL ACIDO GAMMA-AMINO BUTIRICO, EN EL CUERPO ESTRIADO. ESTUDIO IN VIVO, MEDIANTE LA TECNICA DE MICRODIALISIS. (Glutamic acid stimulates gamma-amino-butiric acid release from corpus striatum. In vivo study by microdialysis).

María Estela Andrés y Gonzalo Bustos. Lab. Farmacología-Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

El cuerpo estriado (CE) estructura subcortical del SNC, juega un importante rol en el control de los movimientos voluntarios. El CE recibe una importante aferencia desde la corteza de carácter excitatorio, cuyo neurotransmisor es el ácido glutámico y/o aspártico. Además, el CE presenta una extensa distribución de neuronas gabaérgicas, algunas de proyección y otras interneuronas.

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la liberación de GABA in vivo y su posible modulación por el sistema glutamatérgico, a nivel del CE.

Usando la técnica de microdiálisis in vivo en el CE, se caracterizó la liberación de GABA, en ratas anestesiadas y además, se estudió el efecto de la infusión del ácido glutámico sobre el eflujo basal de GABA. Sondas de microdiálisis fueron implantadas unilateralmente en el CE derecho y perfundidas a 2 ul/min. El GABA fue cuantificado por HPLC acoplado a detección fluorométrica. La infusión con altas concentraciones de K+ (55-70 mM) indujo un aumento en el eflujo de GABA; la omisión de Ca+2 del medio de perfusión, concomitante a un aumento del Mg+2 redujo significativamente el eflujo inducido por K+ 55 mM. La pefusión con ácido glutámico (1-2 mM) aumentó significativamente el eflujo de GABA. Este efecto fue revertido por CNQX, antagonista competitivo de los receptores tipo quisquálico/kaínico de aminoácidos excitatorios.

Estos resultados sugieren que el sistema glutamatérgico modula la liberación de GABA en el CE de la rata.

(Apoyado por Proyecto FONDECYT 744/90)

IV

INTERACCIONES MACROMOLECULARES ESPECIFICAS ENTRE TAU Y EL SISTEMA DE LOS MICROTUBULOS (Specific macromolecular interactions between Tau and the microtubule system).

Farías, G.A., Vial, C. y Maccioni, R.B. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Centro Int. del Cancer y Biología del Desarrollo (ICC)

La proteína Tau asociada a microtúbulos contiene tres secuencias repetitivas a nivel de la región C-terminal, homólogas a las encontradas en la proteína asociada MAP-2. Investigamos los aspectos estructurales y funcionales de los dominios de Tau involucrados en su interacción con microtúbulos, su naturaleza antigénica y el papel de las secuencias repetitivas de Tau en esta interacción. Los péptidos sintéticos V^{187}-G^{204} y V^{218}-G^{235}, que representan las dos primeras secuencias repetitivas, promovían el ensamblaje de tubulina, proceso dependiente de la concentración. Un menor efecto se observó con el fragmento V^{250}-G^{267}. Los péptidos de Tau competían por la incorporación de MAP-2 a microtúbulos. Experimentos de espectroscopía de fluorescencia revelaron un efecto perturbador de los péptidos de Tau sobre la fluorescencia del fragmento B-II(422-434) del dominio de tubulina para la unión de Tau. La especificidad de la unión fue confirmada por la interacción de Tau y de péptidos de Tau con el anticuerpo monoclonal anti-idiotípico MTB6.22. Experimentos de inmunotransferencia confirmaron la interacción de Tau con este anticuerpo que reconoce un epitopo en el dominio funcional de Tau. Los estudios demostraron: (a) Que péptidos de Tau reconocidos por el anticuerpo monoclonal contienen los principales determinantes antigénicos en los dominios de unión de Tau; (b) Que Tau y MAP-2 comparten determinantes antigénicos comunes a nivel de sus sitios de unión a tubulina. Los resultados apoyan la hipótesis que la región definida por las secuencias repetitivas de Tau y MAP-2 está involucrada en la interacción de estas MAPs con el sistema microtubular (Financiado por Conicyt (Proy.186/90) y "Council for Tobacco Research, USA").

V

SECUENCIACION Y ANALISIS ESTRUCTURAL DE LOS GENES QUE CODIFICAN PARA RIBULOSA 1,5-BISFOSFATO CARBOXILASA/OXIGENASA (RuBisCO) DE *Thiobacillus ferrooxidans*. (Sequencing and structural analysis of the genes encoding for Ribulose 1,5-bisfosfate carboxylase/oxygenase from *T.ferroxidans*). **Victor Pulgar y Eugenia Jedlicki. Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina, U. de Chile.**

El *Thiobacillus ferrooxidans* participa en el proceso de biolixiviación de minerales. Es una bacteria autótrofa y quimiolitotrófica que fija CO_2 atmosférico en una reacción catalizada por la RuBisCO. Se presentan los resultados de la secuenciación y caracterización estructural de los genes que codifican para la subunidad mayor (*rbcL*) y menor (*rbcS*) de RuBisCO de *T.ferrooxidans*. A partir de un plásmido recombinante (pRB-1), por análisis de restricción e hibridación, se determinó los fragmentos adecuados para ser subclonados en un derivado del fago M13 y secuenciados por el método de Sanger. La región secuenciada fué de 2229 nucleótidos. *rbcL* de 1422 nucleótidos y *rbcS* de 357 nucleótidos, codifican para polipéptidos de 473 y 118 aminoácidos respectivamente. Las proteinas RbcL y RbcS de *T.ferrooxidans* muestran entre un 90 a un 55% y un 72 a un 58% de similitud respectivamente con RuBisCO de otras bacterias. En las secuencias aminoacídicas deducidas de ambas subunidades se encuentran los residuos (altamente conservados en otras especies) que participan en la catálisis y en el ensamble del oligómero. **(Financiado por PNUD/ONUDI)**

VI

DETERMINANTES DE VARIABLES TERMICAS Y ENERGETICAS EN REPTILES CONGENERICOS: IMPORTANCIA DEL NIVEL DE ANALISIS. (Determinants of thermal and energetic variables in congeneric lizards: consequences of the analysis level). Labra, A. Depto de Cs. Ecológicas, Universidad de Chile. (Patrocinio: M. Rosenmann).

En ectotermos, temperatura corporal y metabolismo son las variables más relevantes, pues modulan los presupuestos de energía calórica y alimentaria. Los determinantes fundamentales propuestos para explicar tales variables son: filogenia y ecología.

En este trabajo, se analizó el rol del ambiente térmico, en las variables mencionadas (y otras de la biología térmica y energética), en dos especies de lagartos del género Pristidactylus, que difieren marcadamente en las condiciones térmicas naturales.

Los resultados indican que las variables centrales mencionadas son conservadas. Sin embargo, las variables asociadas a éstas se modifican, siguiendo los patrones esperados según las condiciones ecológicas.

Se concluye que filogenia y ecología, sólo son los límites de un contínuo, y que los resultados a obtener, dependen del nivel de análisis, es decir tipo de variable a estudiar, y la relevancia de ésta como reguladora fundamental.

Este trabajo fue financiado por los proyectos: FONDECYT 91-0842 y Beca Postgrado 91-031 (U. Chile).

VII

METABOLISMO MAXIMO, HIPOXIA Y DISTRIBUCION ALTITUDINAL: UN ESTUDIO INTRAESPECIFICO. (Maximum metabolic rate, hypoxia and altitudinal distribution: an intraspecific study). Novoa, F.F., y Rosenmann, M. Depto. Cs. Ecológicas, Fac. Ciencias, U. de Chile.

Muchas evidencias indican que las aves pueden volar y vivir en ambientes de altura. Un alto gasto energético resultado del vuelo y de las bajas temperaturas, debe ser la situación en la cual las aves se enfrentan a la hipoxia de estos ambientes. El objetivo de este trabajo es establecer la respuesta metabólica máxima de una especie de paseriforme frente a una disminución de pO_2. Se intentará correlacionar esta respuesta con su distribución altitudinal.

Se estudiaron cuatro poblaciones de Zonotrichia capensis distribuídas entre 200 y 3500 m.s.n.m. Las mediciones de metabolismo máximo e hipoxia se realizaron en cámaras de bronce conectadas a un respirómetro de circuito cerrado, utilizando el método de He-O_2 y a 3 diferentes pO_2: 160, 106 y 85 Torr.

La respuesta metabólica de todos los individuos estudiados fue cuantitativamente la misma. Sólo existió disminución metabólica en la condición de mayor hipoxia (85 Torr).

A nivel intraespecífico, la resistencia a la hipoxia en las aves no se relaciona con su distribución altitudinal. Las poblaciones de altura no mostraron disminución metabólica en pO_2 ambientales cercanos a los existentes en sus lugares de captura.

Finaciado por FONDECYT 0841/91 y DTI N 2594. FF Novoa es becario de Fundación Andes.

VIII

CONDUCTAS DE FORRAJEO EN ROEDORES: COMPARACIONES INTERFENOTIPICAS. (Foraging behavior of rodents: interphenotypic comparisons). Rodrigo A. Vásquez. Depto. de Ciencias Ecológicas, Fac. de Ciencias, Univ. de Chile. (Patrocinio: J. A. Simonetti).

El tamaño corporal y el tipo de locomoción determinarían la eficiencia de alimentación de roedores bajo distintas condiciones de distribución espacial del alimento y riesgo de depredación. Las explicaciones para las conductas de obtención de alimento han sido derivadas, de modo casi exclusivo, a partir de roedores heterómidos (cuadrúpedos-pequeños y bípedos-grandes), careciéndose de evidencia respecto a la conducta de otros grupos de roedores con fenotipos distintos.

En arenas de experimentación se manipuló la oferta de alimento y se simularon distintas condiciones de riesgo de depredación. Se compararon dos especies cuadrúpedas de tamaño corporal grande (Phyllotis darwini) y pequeño (Akodon olivaceus), y una especie pequeña con tendencia al bipedalismo (Oryzomys longicaudatus). Ninguna especie presentó diferencias en su obtención de alimento ante distintas distribuciones de éste. P. darwini presentó las conductas de alimentación más cautelosas, disminuyendo su consumo de alimento ante aumentos del riesgo de depredación. O. longicaudatus no mostró diferencias entre condiciones de bajo y alto riesgo de depredación. Los fenotipos grandes y cuadrúpedos determinarían una mayor vulnerabilidad a la depredación.

(FONDECYT 847-89 y DTI 2596-9044).

IX

EFECTOS DE LA DISTANCIA ENTRE PARENTALES SOBRE EL ESPACIAMIENTO ENTRE PARENTALES Y RECLUTAS (Effects of distance between parent plants on the spacing relationships among parents and recruits). Bustamante R. O. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Se propone un modelo gráfico de reclutamiento poblacional que explora las consecuencias de incorporar la distancia entre parentales sobre el espaciamiento entre plantas madres y sus reclutas, en presencia y en ausencia de granívoros.

Este modelo predice que cuando las plantas madres están muy alejadas entre sí, los granívoros pueden afectar este espaciamiento, pero que a distancias muy cercanas, estos organismos son irrelevantes.

Los supuestos del modelo y sus predicciones son contrastadas experimentalmente con Crypotcarya alba, especie de árbol perteneciente al matorral centro-chileno.

(Trabajo financiado por FONDECYT 847/ 89)