

RECONOCIMIENTO DE LOS CROMOSOMAS HOMÓLOGOS EN LA PROFASE MEIÓTICA Y SU RELACIÓN CON EL PROCESO DE TRANSCRIPCIÓN EN ESPERMATOCITOS. Ortiz R., Echeverría O.M., Ubaldo E. y Vázquez-Nin G.H. Laboratorio de Microscopía Electrónica, Depto. de Biología Celular, Facultad de Ciencias U.N.A.M. México D.F. E mail: roh@hp.fciencias.unam.mx

Durante la meiosis los cromosomas homólogos se aparean, se recombinan y segregan. El mecanismo por medio del cual se reconocen las secuencias homólogas durante la meiosis es aún desconocido. Las teorías propuestas no han explicado hasta el momento, cómo se reconocen las secuencias complementarias de dobles hélices que se encuentran situadas a varios micrómetros de distancia (1, 2). El papel que tiene el DNA y el RNA en este proceso tampoco es claro (3, 4). En este trabajo se estudiaron espermatogonias tipo B y espermatocitos primarios de testículo de cobayo y de rata, empleando reconstrucción tridimensional a nivel de microscopía electrónica, citoquímica ultraestructural, inmunolocalización para DNA, RNA polimerasa II, hnRNPs, snRNP y trimetil-guanosin cap e hibridaciones *in situ* ultraestructurales. A nivel de microscopía óptica se realizaron autorradiografía óptica cuantitativa e inmunolocalización para anti Z-DNA proteínas SR de los snRNP y trimetil-guanosin cap. Las observaciones realizadas a nivel de microscopía electrónica muestran que las espermatogonias B presentan características muy particulares que no corresponden a la morfología de otros tipos celulares en interfase, pues contienen dos disposiciones particulares de cromatina caracterizadas por: arreglos paralelos y lineales de cromatina semicompacta y laxa que recorren largas extensiones del volumen nuclear, así como estructuras plumuladas constituidas por cromatina laxa (fig 1). En estas estructuras plumuladas por medio de la citoquímica ultraestructural, inmunolocalización e hibridación *in situ* se localizó RNA y DNA, además de RNA polimerasa II y hnRNPs lo que demuestra que se encuentran en proceso de transcripción y con poca marca para las snRNP lo que indica *splicing* escaso. Durante el preleptoteno es notable la descompactación de la cromatina y la presencia de múltiples estructuras plumuladas, las cuales se alinean en paralelo. Frecuentemente las estructuras plumuladas alineadas en paralelo se relacionan por medio de filamentos radiales que las unen atravesando el espacio entre ellas semejando una escalerilla de doble cuerda (fig 2). La citoquímica demuestra que las escalerillas de doble cuerda en el preleptoteno están conformadas por DNA y RNP. Cuando el material se fijó con detergente en condiciones hipotónicas y se trató con RNasa se evidenció en células en preleptoteno y leptoteno, un vacío entre los dos ejes de las escalerillas de doble cuerda, lo que demuestra que una parte de la región central (zona de reconocimiento) en la que se localizan los filamentos radiales de las estructuras plumuladas que están constituidos por RNPs (fig 3). En el leptoteno cuando se inicia la formación del elemento axial a partir de las estructuras plumuladas, éstas ya se encuentran alineadas. La elongación de los elementos axiales alineados coincide con el apareamiento final, por lo que el desarrollo del complejo sinaptonémico es simultáneo al crecimiento de los elementos axiales en un estado continuo de leptoteno-cigoteno. Se observó que los extremos de los complejos sinaptonémicos en desarrollo son continuos con las estructuras plumuladas. Las observaciones de la autorradiografía óptica cuantitativa demuestran una transcripción intensa de RNA en las espermatogonias tipo B y en los espermatocitos en las etapas iniciales de la profase meiótica, acompañada de una lenta exportación del RNA al citoplasma. La inmunolocalización a nivel de microscopía óptica con el anti-ZDNA confirma lo observado a nivel electrónico, pero además muestra que existe una actividad transcripcional mucho mayor en los espermatocitos en etapas iniciales de la profase meiótica con respecto a otras células del epitelio seminífero (fig 4). A pesar de la intensa actividad transcripcional el patrón observado para las proteínas SR no se muestra como lo habríamos esperado teniendo un patrón difuso (6), sino que presenta un patrón con motas

sumamente pequeñas lo que nos sugiere una distribución muy particular de los factores de *splicing* en las etapas tempranas de la profase meiótica (fig 5). Todos estos resultados nos permiten sugerir que la transcripción está involucrada en un proceso aún no descrito y que puede ser esencial para el reconocimiento de los cromosomas homólogos. Consideramos que el RNA sintetizado en las estructuras plumuladas a partir de las espermatogonias tipo B y en las etapas iniciales de la profase meiótica promueven el inicio de la búsqueda de homología y reconocimiento de secuencias de los cromosomas homólogos a larga distancia.

Bibliografía consultada

1. Zickler D. and Kleckner N. *Annu. Rev. Genet.* (1998) 32: 619-697.
2. Zickler D. and Kleckner N. *Annu. Rev. Genet.* (1999) 33: 603-754.
3. Vázquez-Nin G.H and Echeverría O.M. *Acta Anatomica (Basel)* (1976) 96: 218-231.
4. Sybenga J. *Chromosoma* (1999) 108: 209-219.
5. Cook P.R. *J. Cell Sci.* (1997) 110: 1033-1040.
6. George-Téllez R., *et. al.*, *Biol. Cell* (2002) 94: 99-108.

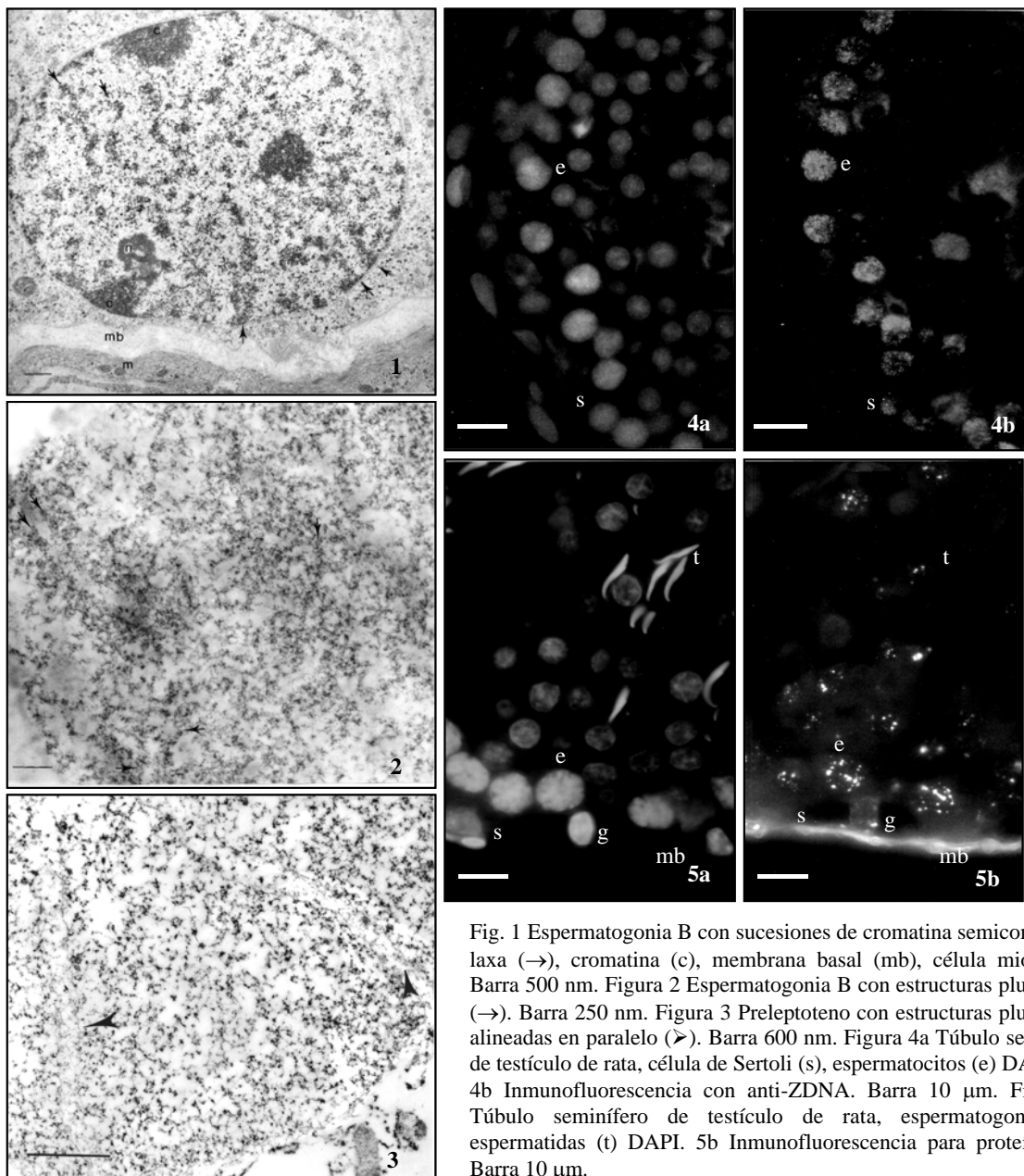


Fig. 1 Espermatogonia B con sucesiones de cromatina semicompacta y laxa (→), cromatina (c), membrana basal (mb), célula miode (m). Barra 500 nm. Figura 2 Espermatogonia B con estructuras plumuladas (→). Barra 250 nm. Figura 3 Preleptoteno con estructuras plumuladas alineadas en paralelo (↗). Barra 600 nm. Figura 4a Túbulo seminífero de testículo de rata, célula de Sertoli (s), espermatocitos (e) DAPI. 4b Inmunofluorescencia con anti-ZDNA. Barra 10 μm. Figura 5a Túbulo seminífero de testículo de rata, espermatogonias (g), espermatidas (t) DAPI. 5b Inmunofluorescencia para proteínas SR. Barra 10 μm.