

Distribución de los pseudoquiasmas en las células de embrión de Hamster (*Mesocricetus Auratus*)

M. RAMOS VECÍN Y G. S. BOCHAROFF

Laboratorio de Embriología, C.N.I.C., Habana

Recibido en: Dic. 1969

ABSTRACT. In this paper we study the frequency of the cells with chromosomic pseudochiasmata during embryogenesis. In the interval between the seventh and the thirteenth day, two maxima in the formation of pseudochiasmata were observed. The first corresponded to the period of the principal organogenesis, that is, 7 1/2 — 8 1/2 days. The number of cells with pseudochiasmata reached 11.8%. The other maximum was observed between the eleventh and the thirteenth days of embryologic development; the number of cells with pseudochiasmata ascended to 6.4%. Between these two maxima, the number of cells with pseudochiasmata was of 2.2 — 2.4%. In the different organs studied the maximum information of pseudochiasmata was observed in different periods. An hypothesis is presented: the pseudochiasmata constitute a manifestation of physiological cell degeneration.

RESUMEN. Se estudió la frecuencia de células con pseudoquiasmas cromosómicos durante la embriogénesis del Hamster dorado. En el intervalo comprendido entre el séptimo y el décimo tercer día del desarrollo embriológico se observan dos máximos en la formación de pseudoquiasmas: El primer vértice corresponde al período de organogénesis (7-1/2 a 8-1/2 días). El número de células con pseudoquiasmas alcanza entonces el 11.8%. El otro máximo se observa entre los días décimo y primero y décimo tercero del desarrollo embriológico, cuando el número de células que presentan pseudoquiasmas aumenta hasta un 6.4%. En el intervalo comprendido entre estos dos máximos, es decir entre el noveno y el décimo día, el número de células en división que presentan pseudoquiasmas cromosómicos constituye el 2.4% y el 2.2% respectivamente. En los distintos órganos estudiados el número máximo de células con pseudoquiasmas fue observado en períodos diferentes: en el cerebro se observó en el décimo día, en el corazón y en los rudimentos de las extremidades al cabo de los 11 días y en el hígado en el décimo tercer día. El aumento y la disminución del número de células con pseudoquiasmas se realiza en un corto plazo de tiempo, que no es más de 12 horas. Fue expuesta la hipótesis, según la cual los pseudoquiasmas constituyen una manifestación de la degeneration celular fisiológica.

INTRODUCCION

Desde hace mucho tiempo sabemos que la irradiación de las células de los animales y las plantas frecuentemente causa las así llamadas adherencias cromosómicas que, conjuntamente con las aberraciones cromosómicas y cromatínicas verdaderas, constituyen una de las consecuencias más importantes del efecto de la radiación ionizante sobre la célula viva (*H. J. Evans, 1962*). Las ensambladuras de los cromosomas pueden inducirse en la célula mediante una serie de influencias quí-

micas (*Darlington C. D. y Koller, 1947; La Cour y Rutishauser, 1953; Levan, Tjio 1948 y Ostergren*). Su origen sigue siendo un enigma. Algunos autores las consideran verdaderas adhesiones que surgen como resultado de un cambio en la matrix de los cromosomas (*Walters, 1957*). Otros las consideran como el resultado de los intercambios subcromatídicos (*La Cour y Rustishauser, 1953*). Por último, según Melander (1953) los trastornos mencionados son el resultado de los cambios en el sentido de la espiralización de las cromátides. Las ensambladuras se manifiestan en la anafase de la mitosis, de forma tal, que dos cromosomas hermanos dirigidos a los polos opuestos quedan unidos en un punto. En la telofase, cuando los cromosomas pegados se separan en la célula, suelen observarse fragmentos acéntricos. Las ensambladuras morfológicamente se parecen a los quiasmas, por eso es conveniente llamarlas "pseudokuasmas". Este término lo ofrecieron en 1948 Levan y Tjio.

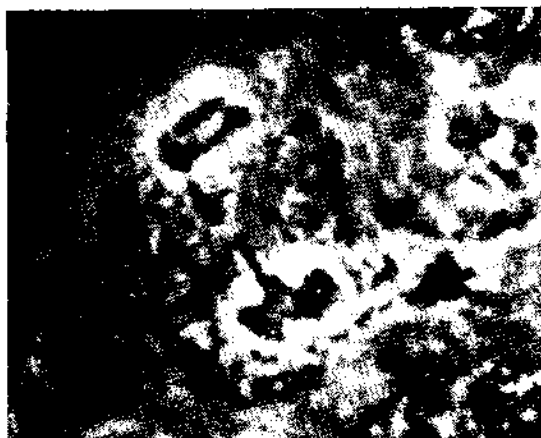
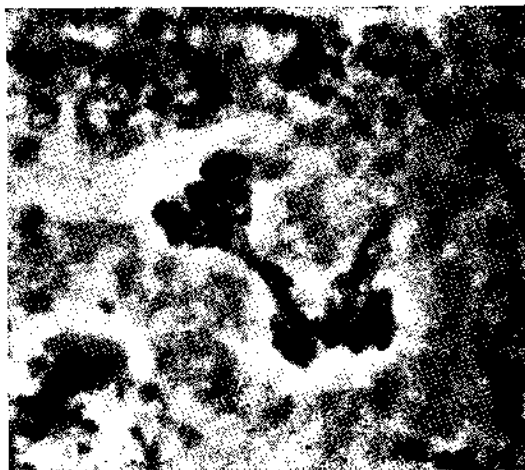
En 1962 Melander, investigando el origen de la cromatina sexual en la embriogénesis del conejo, descubrió que la formación de los pseudokuasmas precedía a la heterocromatinización de uno de los cromosomas X (*Melander, 1962*). Los siguientes trabajos del mismo autor, realizados en los invetrebrados (lombrices e insectos), demostraron que la formación de los pseudokuasmas en los invertebrados era un fenómeno normal que acompañaba a la diferenciación embrionaria de las células (*Melander 1963a, 1963b*). De acuerdo a la opinión de Melander, la formación de los pseudokuasmas puede considerarse como un mecanismo mediante el cual las células adquieren su variabilidad genética en el curso de la diferenciación embrionaria (*Melander 1963c, 1965*).

Los trabajos de Melander dieron a la ciencia datos de extrema importancia para la Embriología. Por eso, el estudio de los pseudokuasmas en el desarrollo embriológico de otros animales, en particular de los mamíferos, es de gran interés. Hasta ahora, tales investigaciones no se han realizado. El trabajo de Melander mencionado anteriormente, que se realizó en el conejo, se limitó a la investigación de los blastocistos jóvenes.

En este trabajo tratamos de llenar el vacío que se había formado. Nuestra investigación tiene por finalidad el estudio de la frecuencia de la formación de los pseudokuasmas en distintas fases del desarrollo embriológico del Hamster dorado.

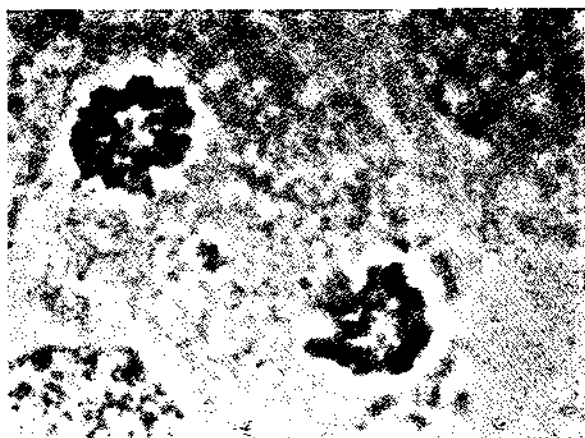
MATERIAL Y METODO

Hemos investigado los embriones de Hamster en las edades de 7, 7-1/2, 8, 8-1/2, 9, 9-1/2, 10, 11 y 13 días. La edad de los embriones se calculó a partir del momento



FIGS. 1, 2 y 3: Pseudoquiasmas en las células de embrión de Hamster de 7.5 días. Aceto-carminé. 100×8

de la copulación, ya que se sabe que la primera división de la segmentación del huevo de Hamster fecundado tiene lugar a las 24 horas después de la copulación (Gravis, 1945, Hamilton y Samuel, 1956). Además de esto, los embriones fueron medidos para precisar la edad, de acuerdo a la cronología del desarrollo del embrión de Hamster (Boyer, 1953). Los embriones jóvenes se fijaron en el interior del útero. Los embriones más viejos se sacaron del útero, quitando las envolturas del feto. Para confeccionar las preparaciones "squash", las piezas de los distintos



Figs. 5 y 6: Fragmentos acéntricos en las células de embrión de Hamster de 10 días. Aceto-carminé. 100×8

órganos embrionarios se colocaron en acetocarmín. Los embriones de 7 y 7-1/ días se coloraron totalmente. En las preparaciones "squash" se calcularon las anafases normales y las telofases tempranas, así como los pseudoquiasmas. También calculamos las anafases y telofases que presentaban fragmentos acéntricos de los cromosomas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los pseudoquiasmas o adhesiones cromosómicas se observan con mayor frecuencia en las células del Hamster dorado durante la anafase avanzada o durante la telofase temprana de la mitosis. En muchos casos estos son muy parecidos a los puentes cromatídicos, los que surgen, como es conocido, como resultado de la destrucción (ruptura) y la unión sucesiva de cromátides hermanas. Los pseudoquiasmas se diferencian de los verdaderos puentes cromatídicos en que nunca tienen configuración regular.

El punto de adhesión siempre se destaca como la parte más gruesa y coloreada del puente (Figs. 1, 2 y 3). Además, como regla general, los puentes cromatídicos se extienden en línea recta entre dos grupos de cromosomas anafásicos, mientras que de ordinario los pseudoquiasmas están incurvados. Un indicio importante y a la vez distinguible de los pseudoquiasmas es que no se les puede ver junto a fragmentos. Los fragmentos aparecen más tarde cuando los cromosomas pegados se separan y sus segmentos terminales quedan en el citoplasma (Fig. 4). En contraposición a esto, los puentes cromatídicos se encuentran junto a los fragmentos.

Melander (1963) señaló que los segmentos proximales de los cromosomas que forman los pseudoquiasmas muestran alociclicismo, siendo observados como cromocentros positivamente heteropicnóticos en la interfase siguiente. En los embriones de Hamster dorado se ve claramente la relación existente entre los pseudoquiasmas y los cromosomas heteropicnóticos (o grandes segmentos cromosómicos heteropicnóticos). Esto también nos permite distinguir los pseudoquiasmas y los fragmentos que se forman después de la separación de éste de los puentes cromatídicos y los fragmentos asociados a estos (Figs. 4 y 5).

Ordinariamente, en las células en división del embrión de Hamster dorado se observa uno, más raramente dos, pseudoquiasmas. Los datos del cálculo de células que presentan pseudoquiasmas, en distintos períodos del desarrollo embriológico, están representados en la Tabla I.

Todo el período de desarrollo intrauterino dura de 15-1/2 a 16 días. El material investigado por nosotros incluye embriones desde el estadio de línea primitiva hasta el feto totalmente formado.

Durante este período se observan dos máximos en la formación de pseudoquiasmas. En los más jóvenes de los embriones investigados (7 días) el porcentaje de anafases con pseudoquiasmas fue relativamente bajo. Al cabo de 12 horas se produce un brusco aumento del número de células que presentan cromosomas con pseudoquiasmas. Este período coincide con el comienzo de la diferenciación de la placa neural

TABLA 1

CANTIDAD TOTAL (EN %) DE ANAFASES ANORMALES EN
LOS TEJIDOS DE LOS EMBRIONES DE HAMSTER

<i>Edad de los los embriones</i>	<i>Número de embriones estudiados</i>	<i>Número de Anafases normales</i>	<i>Número de Anafases con Pseudoquiasmas y con fragmentos</i>	<i>% de Anafases Anormales</i>
7	8	384	14	3.5 ± 0.08
7-1/2	5	303	32	9.5 ± 0.29
7-3/4-8	1	451	40	8.8 ± 0.17
8-1/2	2	365	49	11.8 ± 0.26
9	2	1038	56	5.1 ± 0.04
9-1/2	2	1410	36	2.4 ± 0.01
10	3	1504	35	2.2 ± 0.01
10	3	1325	58	4.1 ± 0.02
13	3	1369	88	6.4 ± 0.04

y del notocordio el porcentaje de anafases con pseudoquiasmas se mantiene a nivel alto hasta que transcurren 8-1/2 días del desarrollo embriológico, alcanzando un 11.8%. En este período se producen las principales organogénesis. Así pues, el primer período de elevación de la frecuencia de formación de pseudoquiasmas coincide con el período de intensas y distintivas diferenciaciones. El otro máximo en la formación de pseudoquiasmas se observa en los embriones de 11-13 días de edad. Para comprender el origen de este otro vértice, es necesario examinar los datos presentados en la Tabla II. En esta tabla puede apreciarse que el máximo en la formación de pseudoquiasmas, en las células de distintos órganos, se alcanza en tiempos diferentes. En el cerebro, el número máximo de pseudoquiasmas se observa en embriones de 10 días de desarrollo. En el corazón y las extremidades el número máximo de células con pseudoquiasmas se registra en embriones de 11 días y en el hígado en el décimo tercer día del desarrollo embriológico. Precisamente, por este aumento brusco del número de células con pseudoquiasmas en el hígado, es que se determina el segundo máximo en la formación de pseudoquiasmas. En otros órganos embrionarios, al cabo de 13 días de desarrollo el porcentaje de células con pseudoquiasmas resulta relativamente bajo.

TABLA II

POR CIENTO DE LAS ANAFASES ANORMALES EN DISTINTOS
ORGANOS DE LOS EMBRIONES DE HAMSTER

Edad del embrión en días	CEREBRO			CORAZON			HIGADO			EXTREMIDADES		
	Anafases normales	Anafases anormales	%	Anafases normales	Anafases anormales	%	Anafases normales	Anafases anormales	%	Anafases normales	Anafases anormales	%
9-1/2	260	5	1.8	225	6	2.6	224	10	4.4	577	10	1.7
10	583	19	3.2	266	2	0.7	209	9	4.3	357	5	1.3
11	206	5	2.3	177	13	6.3	191	19	9	637	26	3.8
13	570	8	1.4	165	5	2.9	604	75	11	350	7	2.0

El aumento en la frecuencia de la formación de pseudoquiasmas en las células de distintos órganos coincide en el tiempo con algunos procesos histó y morfogenéticos. Así pues, el aumento del número de células con pseudoquiasmas en el ectodermo y el mesodermo de las extremidades coincide con el comienzo de la formación de los dedos, y el aumento del porcentaje de células con pseudoquiasmas en el hígado corresponde al inicio de la formación de sangre en el hígado.

Los dos máximos en la formación de pseudoquiasmas descubiertos por nosotros en la embriogénesis del Hamster dorado, por lo visto no son los únicos. Melander (1967) describió una formación regular de pseudoquiasmas en las células del blastocisto de conejo durante el período en que aparece la cromatina sexual (Corpúsculo de Barr).

La primera ola en la formación de los pseudoquiasmas durante la embriogénesis del Hamster dorado también se desarrolla en el estadio de blastocisto, que no fue estudiado por nosotros.

Nos parece muy interesante el hecho de que la elevación y la baja del número de células con pseudoquiasmas se produzca de un modo muy rápido, durante un breve intervalo de tiempo. El primer aumento en el número de células con pseudoquiasmas observado por nosotros (del 3.5% al 9.5%) se produjo durante sólo 12 horas. Igualmente la baja en el número de células con pseudoquiasmas (de 11.8% a 5.1%) se observó durante 12 horas. El descenso siguiente, de un 5.1% a un 2.4% también reclamó 12 horas. Así, pues, la elevación y la reducción del porcentaje de células que presentan pseudoquiasmas, en dos veces, se realiza en el curso de 12 horas. Estas observaciones hacen suponer que los pseudoquiasmas cromosómicos surgen en el curso de sólo un ciclo mitótico.

La última cuestión que requiere discusión se refiere al papel de los pseudoquiasmas en la embriogénesis de los animales. Melander (1963a, b; 1965) basándose en el estudio de los pseudoquiasmas en la embriogénesis de los invertebrados, expuso la suposición de que los pseudoquiasmas conducen a la distensión de segmentos cromosómicos adyacentes, los que llegan a ser alocíclicos, lo que a su vez cambia la actividad funcional de los cromosomas. Por lo tanto, según Melander, los pseudoquiasmas desempeñan un papel activo como mecanismo de diferenciación celular. La comparación de nuestras observaciones con los datos del trabajo de Valknovsuaya (1964) nos permite exponer otra hipótesis sobre la posible importancia de los pseudoquiasmas en la embriogénesis.

Valknovsnaya, estudiando la cariología de los embriones de Hamster dorado en diferentes estadios del desarrollo uterino, descubrió que en el estadio de 15 somitas, es decir en embriones de 9 días de edad, existe un gran porcentaje de células

aneuploides. Muchas células en división del embrión de esta edad, también contenían puentes, fragmentos y cromosomas enlazados. Al mismo tiempo en el tejido de los embriones se observa una degeneración de las células en masa. Valknovsnaya relaciona las anomalías de la división celular y la aneuploidía observadas por ella con la degeneración celular. Según nuestros datos, el primer máximo en la aparición de pseudoquiasmas precede a la aparición de las células aneuploides. Por ello es posible suponer que los pseudoquiasmas son una manifestación de la degeneración celular fisiológica que ya ha comenzado. La formación de pseudoquiasmas puede conducir a la aneuploidía celular y a la sucesiva destrucción de la célula. Al mismo tiempo, la propia degeneración celular fisiológica, como señaló por primera vez Glüksman (1951-1965) desempeña un importantísimo papel en toda una serie de procesos morfogénéticos que se producen durante la embriogénesis de los animales.

REFERENCIAS

- BAYER CH. C. Chronology of development for the golden hamster. *J. Morphol* 92, 1, 1953.
- DARLINGTON C. C. y KOLLER P. C. The chemical breakage of chromosomes. *Heredity*, 1, 187, 1947.
- EVANS H. J. Chromosome aberrations induced by ionizing radiations. *Rev. of Cytology*, 13, 1962.
- GLÜKSMAN A. Cell death in normal vertebrate Ontogeny. *Biol. Rev.*, 26, 59, 1951.
- GLÜKSMAN A. Cell death in normal development. *Arch. Biol.*, 76, 419, 1965.
- GRAVES A. P. Development of the golden hamster, *Cricetus auretus* (Waterhouse), during first nine days. *Amer. J. Anat.*, 77, 219, 1945.
- HAMILTON W. J. y SAMUEL D. M. The early development of golden hamster (*Cricetus auratus*). *J. Anat.*, 90, 395, 1956.
- LA COUR L. F. y RUTISHAUSER A. Chromosome breakage experiments with endosperm: sub-chromatid breakage. *Nature*, 172, 501, 1953.
- LEVAN A. y TJIO J. H. Induction of chromosome phragmentation by phenols. *Hereditas*, 34, 453, 1948.
- MELANDER Y. Chromosome behavior during the origin of sex chromatin in the rabbit. *Hereditas*, 48, 645, 1962.
- MELANDER Y. The role of a secondary constriction of a tumour chromosome. *Hereditas*, 49, 241, 1963.
- MELANDER Y. Chromatid tension and phragmentation during the development of *Colliphora erythrocephala* MEIG. *Hereditas*, 49, 91, 1963.
- MELANDER Y. Cell differentiation and delayed separation of anaphase Chromosomes. *Hereditas*, 49, 277, 1963.
- MELANDER Y. Cytogenetic aspects of embryogenesis in *Padudicola*. *Hereditas*, 119, 1963.

- MELANDER Y. Mitotic events in abnormal embryogenesis and alterations of genetical activity. *Hereditas*, 52, 387, 1965.
- OSTERGEN G. Chromosome bridges and breaks by Colchicine. *Bot. Nat.*, 376, 1948.
- WALALKNOWSKA YANINA. The chromosome in Ontogenesis of golden hamster. *Folia Biologica*, 12, 321, 1964.
- WALTERS M. S. Studies of spontaneous breakage in interspecific hybrids of *Bromus*. *Univ. Col. Publ. Bot.*, 28, 335, 1957.