

MEIOSIS:

En la gametogénesis o la esporogénesis, se llama meiosis al conjunto de dos divisiones del núcleo (sin síntesis replicativa entre ellas) que preceden a la formación de los gametos o las meiosporas.

La meiosis es parte del proceso de diferenciación celular de los organismos eucariotas con reproducción sexual que conduce a la formación de los gametos, sin embargo la mayoría de las definiciones sólo hacen referencia a las divisiones del núcleo y los cromosomas (que es estrictamente la meiosis) sin preocuparse si es parte de un proceso más amplio; como ejemplo Darlington definió la meiosis: “ocurrencia de dos divisiones de un núcleo acompañadas por una sola división de sus cromosomas”.

En otras definiciones más tradicionales y un poco más amplias, a las divisiones de la meiosis se les denomina primera división (I) (reduccional) y segunda división (II) ecuacional. Esta distinción entre ecuacional y reduccional fue utilizada con anterioridad al descubrimiento de los fenómenos de sobrecruzamiento y sus consecuencias genéticas (la recombinación) y se entendía la primera división como una reducción de la cantidad de información genética diferente (reduccional) mientras la segunda división se entendía como un mantenimiento de la cantidad de información genética diferente en cada célula hija (ecuacional).

Cuando se puso de manifiesto que existía intercambio entre cromosomas homólogos se abandonó la nomenclatura reduccional-euacional, o en todo caso se decía que la primera división era en parte reduccional y en parte ecuacional y la segunda era complementaria de la primera, también en parte reduccional y en parte ecuacional.

Sin embargo es posible encontrar textos en los que la terminología reduccional-euacional no está referida a la cantidad de información genética diferente sino al número de cromosomas, que en la primera se reduce a la mitad y en la segunda se mantiene. Por ello la nomenclatura, obsoleta por otra parte, es equívoca y lo más conveniente es no utilizarla.

La meiosis **se caracteriza** por:

Reconocimiento y apareamiento de los cromosomas homólogos

Sobrecruzamiento

Mantenimiento de uniones producidas por sobrecruzamiento (quiasmas)

Orientación de centrómeros homólogos a polos opuestos en 1ª división (sintética)

Disyunción de cromosomas homólogos y migración al azar a los polos en 1ª división

La meiosis **es responsable** de:

Reducción del número de cromosomas a la mitad (de $2n$ a n)

Aumento de la variabilidad genética

Recombinación

Migración al azar de centrómeros

Reparación de defectos genéticos

Eliminación de letales gaméticos

Mantenimiento de una línea celular totipotente (la germinal) permitiendo la diferenciación de otras líneas celulares.

La meiosis está precedida de una “interfase premeiótica” en la que las células se preparan para las divisiones posteriores. Esta interfase es de mayor duración que las existentes entre dos mitosis, las células crecen hasta alcanzar un tamaño mayor del habitual y se realiza la totalidad de la replicación de los cromosomas si bien queda de un 0.3 a un 1% de la síntesis de DNA pendiente que se realizará durante la profase.

contráctiles son del tipo de la tubulina y si se tratan los premeiocitos con colchicina el bouquet no se forma). La fluidez de la membrana interna permite el movimiento de sus proteínas con los telómeros asociados, facilitando su reunión y a la larga como se verá el apareamiento de los cromosomas homólogos.

En otras ocasiones el bouquet no se produce por asociación de telómeros sino por reunión de secuencias codificantes idénticas; en el caso de *Xenopus leavis* todos los extremos de todos los cromosomas se unen por la zona que sintetiza RNAr 5S.

El hecho de que en meiocitos se encuentre sistemáticamente sólo un nucleolo, si las regiones del organizador nucleolar (NOR) son activas en todos los cromosomas en que se encuentren, puede significar también un sistema para colocar en proximidad secuencias homólogas.

En la actualidad se está trabajando en determinación de la existencia de un “a modo de bouquet” de centrómeros que también facilitaría tanto el funcionamiento como la multiplicidad de los puntos de inicio del apareamiento.

El bouquet por tanto, es una estructura de importancia capital asociada al apareamiento de los cromosomas.

La mayor concentración de cromatina en la zona del bouquet implica que de forma normalmente opuesta se observen amplias lazadas cromosómicas sueltas. Esto indica que los cromosomas no están comprimidos en el núcleo, que tienen espacio más que suficiente para el movimiento. Este hecho que es fundamental para las aproximaciones estre homólogos que concluirán con el apareamiento, se describió como algo inespecífico en 1905 por McClung que le dio el nombre de sinétesis, hoy en desuso.

En leptotena a la vez que progresa la espiralización, los cromosomas van asociando a su borde proteínas básicas no histonas que forman un cordón continuo a lo largo del cromosoma. Esta estructura forma parte de los complejos sinaptinémicos que están implicados en el proceso de apareamiento de los cromosomas homólogos y reciben el nombre de **elementos laterales de los complejos sinaptinémicos (EL)** (Fig. 4.1 d).

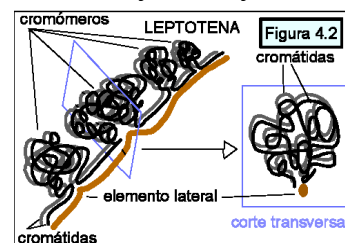
Cada elemento lateral de los futuros complejos sinaptinémicos parece que es una estructura única formada por proteínas básicas no histonas que tienen afinidad por las sales de plata (platas amoniacales), resultando fácilmente teñibles para actuar como densos a los electrones. En la zona de unión con la envoltura nuclear hay ARN y actina o una proteína del mismo tipo (Fig. 4.2).

Algún tipo de mecanismo hace que su longitud se ajuste a la de los cromosomas; conforme progresan éstos en la espiralización y se acortan; los elementos laterales ajustan su longitud a la del cromosoma.

No se ha detectado que los ELs sigan los plegamientos de la fibra de cromatina en los cromómeros, más bien parece que permanecen fuera de los cromómeros y sólo en contacto con el cromosoma en los segmentos en que éstos no se pliegan sobre sí mismos.

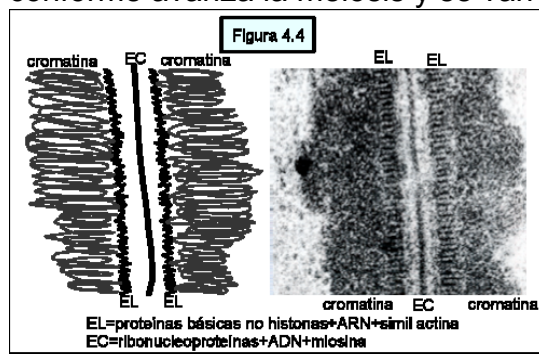
Durante la leptotena en el nucleolo se sintetiza una ribonucleoproteína que formará en el futuro el elemento central de los complejos sinaptinémicos (EC). Estas moléculas permanecen acumuladas en la parte granular del nucleolo hasta el reconocimiento de homólogos en la zigotena.

Se considera que la leptotena termina cuando comienza el apareamiento entre cromosomas homólogos, que es tanto como decir que termina cuando comienza la fase siguiente. Esta aparente simpleza sirve para ilustrar que la meiosis debe entenderse como un proceso continuo, sin interrupciones bruscas, y que sólo para su mejor comprensión se subdivide en fases y etapas.



leptotena (c). Al aparearse segmentos homólogos de cromosomas, se establecen entre ellos unos filamentos transversales que mantienen en paralelo los EL y desde el nucleolo se transportan las ribonucleoproteínas granulares presursoras del elemento central (EC) y se depositan sobre los filamentos transversales y entre los EL de forma más o menos uniforme, estabilizando los CS (Fig. 4.4).

Este depósito uniforme va eliminándose por trozos o concentrándose hasta que queda un fino elemento central típico y unos acúmulos irregularmente distribuidos que se denominan nódulos zigoténicos. El número de nódulos zigoténicos va disminuyendo conforme avanza la meiosis y se van haciendo más pequeños y redondeados.



Los complejos sinaptinémicos se han encontrado en las profases I de todos los meiocitos.

Bioquímicamente considerados los EL están constituidos por proteínas básicas no histonas que tiñen con plata amoniaca; además en las zonas de unión con la envoltura nuclear tienen ARN y actina o una proteína similar. Los EC están constituidos por ribonucleoproteínas, con proteínas diferentes a

las de los EL pues no se tiñen con plata. A estas ribonucleoproteínas se asocia miosina en forma de filamentos y se duda si además hay algo de ADN asociado a ellas.

Las diferencias estructurales entre EL y EC hacen que con las técnicas de "spreading" que es la habitual para la observación de complejos sólo se tiñen los EL.

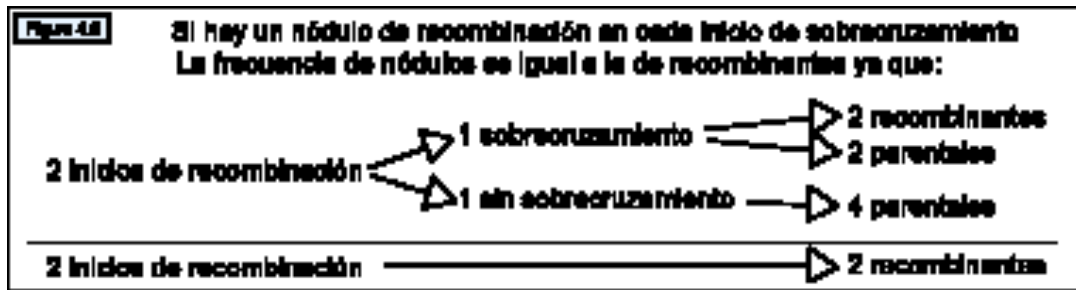
La formación de los complejos sinaptinémicos tiene lugar de la siguiente manera. En leptotena, cuando los extremos de los cromosomas están unidos a un área restringida de la envoltura nuclear formando el bouquet, aparecen los elementos laterales (EL) asociados a cada cromosoma lateralmente. Dada la espiralización que en ese momento presentan los cromosomas, sólo una pequeña porción de la cromátida está en contacto con el EL.

También en leptotena y en el nucleolo se sintetiza o se almacena la ribonucleoproteína que es precursora del elemento central (EC).

En zigotena los EL se aproximan unos a otros y comienzan a aparearse respetando la homología entre ellos. Se empiezan a formar los filamentos transversales que ponen en contacto los EL. Sólo después del reconocimiento de los homólogos entre sí se transporta desde el nucleolo la ribonucleoproteína granular y se deposita entre ellos de forma más o menos uniforme estabilizando el CS.

Del depósito más o menos uniforme se van eliminando trozos o concentrándose hasta que queda un fino y típico EC e irregularmente distribuidos unos acúmulos de ribonucleoproteína que se denominan nódulos zigoténicos.

El número de nódulos zigoténicos va disminuyendo conforme avanza la meiosis y se van haciendo más pequeños y redondeados. En paquitena queda una frecuencia de nódulos que es coincidente con la frecuencia de recombinantes que se detecta posteriormente. Entonces a los nódulos se les llama nódulos de recombinación. Se sabe que por cada sobrecruzamiento se forman dos recombinantes pero como se verá al analizar la recombinación de los inicios de sobrecruzamiento sólo la mitad da lugar a intercambio entre cromátidas y por tanto a recombinantes.



La formación de los nódulos de recombinación por concentración permite explicar los fenómenos de interferencia de quiasmas.

Los nódulos de recombinación fueron observados por primera vez por Rasmussen y Holm en 1978 y relacionados con la recombinación por A. Carpenter en 1979.

Los complejos sinaptinémicos se desorganizan durante la paquitena pero donde se localizan los nódulos de recombinación quedan restos que pueden detectarse incluso después de diplotena.

En la actualidad se acepta de modo general que los complejos sinaptinémicos (CS) son responsables del apareamiento homólogo en meiosis (sin éste no sería posible la recombinación meiótica). Además de las observaciones y otros datos indirectos, apoya esta afirmación los resultados obtenidos por el tratamiento con mitomicina C (que inhibe la síntesis de ADN) durante la zigotena que impedía la formación de CS y no hay recombinación. El mismo efecto pero reversible lo tiene el 2-desoxirribonucleósido de adenosina que inhibe la síntesis de zig-ADN y mientras actúa no se ensamblan los complejos. En resumen la síntesis de ADN es indispensable para el apareamiento.

Sin embargo la necesidad de los complejos sinaptinémicos para la recombinación es sólo en meiosis pues, por una parte los procariontes tienen fenómenos de recombinación sin CS; la recombinación somática no está mediada por CS. Tampoco debe dejar de citarse que la relación entre CS y apareamiento cromosómico está limitada a la meiosis pues en algunas células somáticas (ganglios cerebrales o glándulas salivales de dípteros) hay apareamientos de homólogos sin complejos sinaptinémicos.

Complejos sinaptinémicos en meiosis aquíasmáticas:

Los machos de dípteros como *Drosophila* y las hembras de lepidópteros como *Bombix* no forman sobrecruzamientos ni presentan, por tanto, recombinación entre homólogos; sin embargo el reparto de cromosomas en anafase I es regular (un homólogo migra a cada polo) porque los cromosomas permanecen apareados hasta ese momento. La estructura que mantiene unidos los cromosomas hasta el final de metafase I es una modificación perdurable de los CS.

En estos casos los CS hasta paquitena presentan un aspecto normal pero a partir de ahí se van adicionando nuevos materiales a los EL que como consecuencia se engrosan, llegan a tapar completamente el espacio entre ellos. En metafase I el CS transformado tiene una coloración uniforme y no se observa en él estructura tripartita. En anafase I se separa de la cromatina y se libera al citoplasma. Este fenómeno cuando se observó por primera vez al microscopio óptico se interpretó como "eliminación de cromatina" describiéndose en varias especies de lepidópteros.

¿Qué mecanismos aparean a los homólogos?:

Los datos que se conocen sobre el proceso del apareamiento permiten especular sobre las causas que desencadenan el proceso. Los extremos de los cromosomas se encuentran reunidos en una zona y anclados por proteínas elásticas a la membrana interna de la envoltura nuclear; la fluidez de la membrana facilita la aproximación y reconocimiento de homólogos. Sin embargo algunos autores consideran fundamental la asociación somática de cromosomas homólogos que se definiría como una tendencia

de los cromosomas homólogos a ocupar posiciones próximas (ya se ha descrito en algunas células especiales como las salivales de dípteros, pero no se ha visto esta asociación estrecha en la inmensa mayoría de las células estudiadas).

Antes de producirse el apareamiento los cromosomas están tan desespiralizados que no se puede apreciar si existe tendencia de los homólogos a encontrarse más próximos entre sí que con cualquier otro cromosoma.

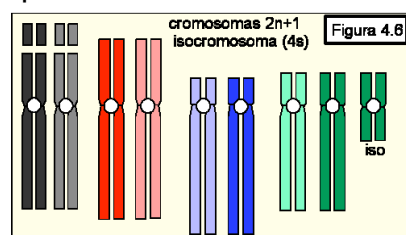
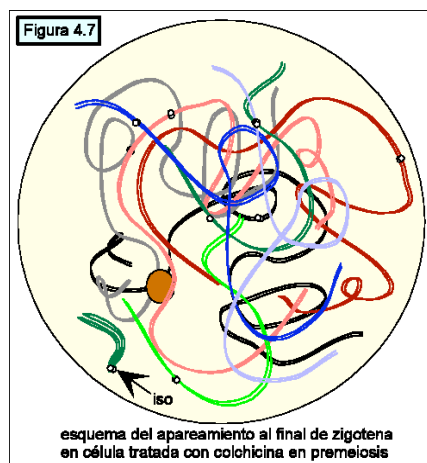
¿Existe una asociación somática de homólogos?

Como tal nunca se ha probado su existencia pero si se considera que en las telofases mitóticas, por reunirse todos los centrómeros en el polo,, los telómeros de los cromosomas con índices centroméricos similares (incluidos los homólogos) se concentran en un plano, y que los cromosomas apenas se desplazan durante las interfases, existe por lo menos una facilitación en la formación del bouquet.

Por otra parte, que la proximidad tiene que ver con el bouquet y no con la asociación por homología lo pone de manifiesto el siguiente experimento:

Se supone que una inyección de colchicina en la premeiosis (se elimina rápidamente y no quedan rastros durante la meiosis) destruye el bouquet y, aunque se forman EL de complejos, no hay apareamiento.

Se comprueba porque cuando este tratamiento se aplica a un individuo con un cromosoma extra especial, metacéntrico formado por la duplicación de un brazo cromosómico (isocromosoma) (Fig. 4.6), la falta de apareamiento se observa en los cromosomas normales pero el isocromosoma aparea consigo mismo perfectamente (Fig. 4.7).



Para estar próximos y poder aparear los homólogos necesitan el bouquet mientras que los dos brazos idénticos del isocromosoma sin necesidad de otras estructuras siempre están unidos.

Hoy se cree que la dinámica del apareamiento comienza con pruebas de apareamiento de cromosomas al azar, teniendo más probabilidad los que están más próximos. Si son homólogos el apareamiento progresa y si no lo son las irregularidades producen una tensión del apareamiento que "salta", se deshace y cada cromosoma repudiado prueba con otro.

El proceso aunque al principio pueda ser un poco lento va cogiendo velocidad progresivamente ya que los apareamientos homólogos persisten y reducen drásticamente las posibilidades de pruebas de apareo.

Una vez que se ha presentado el modelo del inicio y la progresión del apareamiento la pregunta es ¿cómo se reconocen exactamente los cromosomas homólogos?

Se presentan a continuación una serie de posibilidades que pueden combinarse entre sí o con otras ideas no expuestas aquí.

1ª posibilidad: La secuencia nucleotídica del ADN de las zonas apareantes, por tener grandes coincidencias entre homólogos permite el reconocimiento específico.

2ª posibilidad: Los EL de cada par de homólogos son diferentes en algún nivel de su composición y sólo es estable el apareamiento entre EL de homólogos.

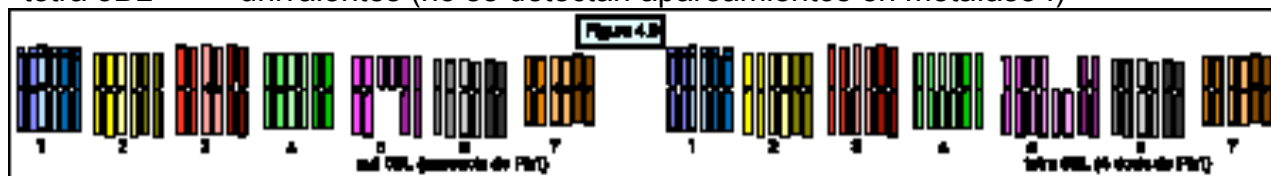
3ª posibilidad: La secuencia en la colocación de fibrillas transversales, específica de cada cromosoma, determina el reconocimiento. (Llevaría a preguntar ¿qué determina la secuencia de fibras transversales?)

4ª posibilidad: La secuencia de tamaños de los plegamientos de la cromatina en dominios, también específica para cada par de homólogos, determina el

apareamiento homeólogo” puesto que en su ausencia se produce apareamiento entre cromosomas homeólogos.

Por otra parte, la ausencia de Ph1 se puede conseguir por delección del brazo cromosómico 5BL y sobredosis del mismo gen por duplicaciones del mismo brazo cromosómico (Fig. 4.9).

- Ph1 Ph1 = normal = Sólo apareamiento homólogo
- Ph1 ph1b = normal = Sólo apareamiento homólogo
- ph1b ph1b = apareamientos homólogos y homeólogos (multivalentes encadenados)
- nuli 5BL = apareamientos homólogos y homeólogos (multivalentes encadenados)
- tetra 5BL = univalentes (no se detectan apareamientos en metafase I)



En estos resultados se aprecia un efecto de dosis, con 4 dosis de Ph1 (tetra 5BL) sólo hay univalentes, con 2 dosis hay bivalentes y con 0 dosis (nuli 4BL) hay multivalentes.

Además se pudo comprobar que los complejos no se alteran sea cual sea el genotipo para Ph1 (Gillies 1987).

Al analizar los apareamientos no se detectaron diferencias para los distintos genotipos en el principio de la zigotena, como los cromosomas tienen varios puntos de iniciación del apareamiento se aprecian apareamientos de varios cromosomas entre sí. Los portadores de algún gen Ph1 corregían con el tiempo el apareamiento pues en el final de zigotena sólo se encuentran apareamientos entre dos cromosomas, pero en los ph1b ph1b y en los nuli 4BL nunca se encontraba un apareamiento completo ni corregido y los encadenamientos entre bivalentes, producto de varios puntos de iniciación, se mantenían pudiendo apreciarse después hasta en metafase I. (Holm 1988-89).

Con todos estos datos se acepta como válida la hipótesis formulada por Hobolth en 1981:

El gen normal Ph1 retrasa el sobrecruzamiento hasta que el apareamiento se limita únicamente a los homólogos. En su ausencia el tiempo se acorta y los sobrecruzamientos se producen cuando no se han resuelto los apareamientos homeólogos. En el caso de plantas con dosis extra el periodo anterior al sobrecruzamiento se hace tan largo que se resuelve el apareamiento sin que se haya producido sobrecruzamiento y con la desorganización de los complejos sinaptinémicos sólo quedan univalentes.

Naturalmente Ph1 no es un cronómetro, aunque su efecto sea temporal debe pensarse que su producto es una proteína que, de alguna manera, retrasa la formación de los sobrecruzamientos, por ejemplo inactivando durante un tiempo algún enzima de los que intervienen en el intercambio.

En resumen, el apareamiento debe considerarse como un proceso efectivo de unión de homólogos pero no excesivamente exacto. Por otra parte aunque es claro que se produce mecánicamente por procesos de ensayo y error, existe un control del procedimiento regulado genéticamente.

PAQUITENA (filamento grueso) los cromosomas entran en paquitena completamente apareados y siguen espiralizándose paulatinamente a la vez que merma el nucleolo. Durante la paquitena tiene lugar la síntesis de ADN que se denominó paq-ADN (P-ADN) que parece que está relacionado con la reparación de algún trozo de doble hélice. Pero sobre todo en paquitena es el momento en que se produce el sobrecruzamiento, que es el intercambio entre cromátidas homólogas que produce la recombinación genética y que se observa citológicamente bajo la forma de quiasmas.

RECOMBINACIÓN: CONSIDERACIONES HISTÓRICAS

El redescubrimiento de los trabajos de Mendel trajo como consecuencia una serie de repeticiones y comprobaciones experimentales utilizando otros organismos u otros caracteres con variabilidad para demostrar la universalidad de las conclusiones.

Entre los trabajos de guisante (*Pisum sativum*) Bateson y Punnett estudiaron la independencia de la transmisión de las características: color de la flor (Púrpura o roja) y forma del polen (Alargado o redondo).

Cruzaron las líneas no segregantes (parentales) Púrpura Alargado X roja redondo. (Figura 4.10a)

La F1 (homogénea) resultó Púrpura Alargado. Luego: (Púrpura P>p roja) (Alargado L>l redondo).

La F2 (que se esperaba 9:3:3:1) resultó segregante pero con las siguientes proporciones:

14 Púrpura Alargado; 1 Púrpura redondo; 1 roja alargado; 4 roja redondo.

Explicaron el exceso de combinaciones parentales por la existencia de alguna forma de acoplamiento físico entre los alelos, dominantes por un lado y recesivos por otro.

Siguiendo con otros cruzamientos en los que los parentales eran:

Dominante 1, recesivo 2 X recesivo 1, Dominante 2, (Figura 4.10b) los autores encuentran relaciones numéricas similares con defecto de las clases (Dominante 1 Dominante 2) y (recesivo 1 recesivo 2); por lo que para indicar el comportamiento de los genes Dominantes se propone que se diga que se encuentran en repulsión.

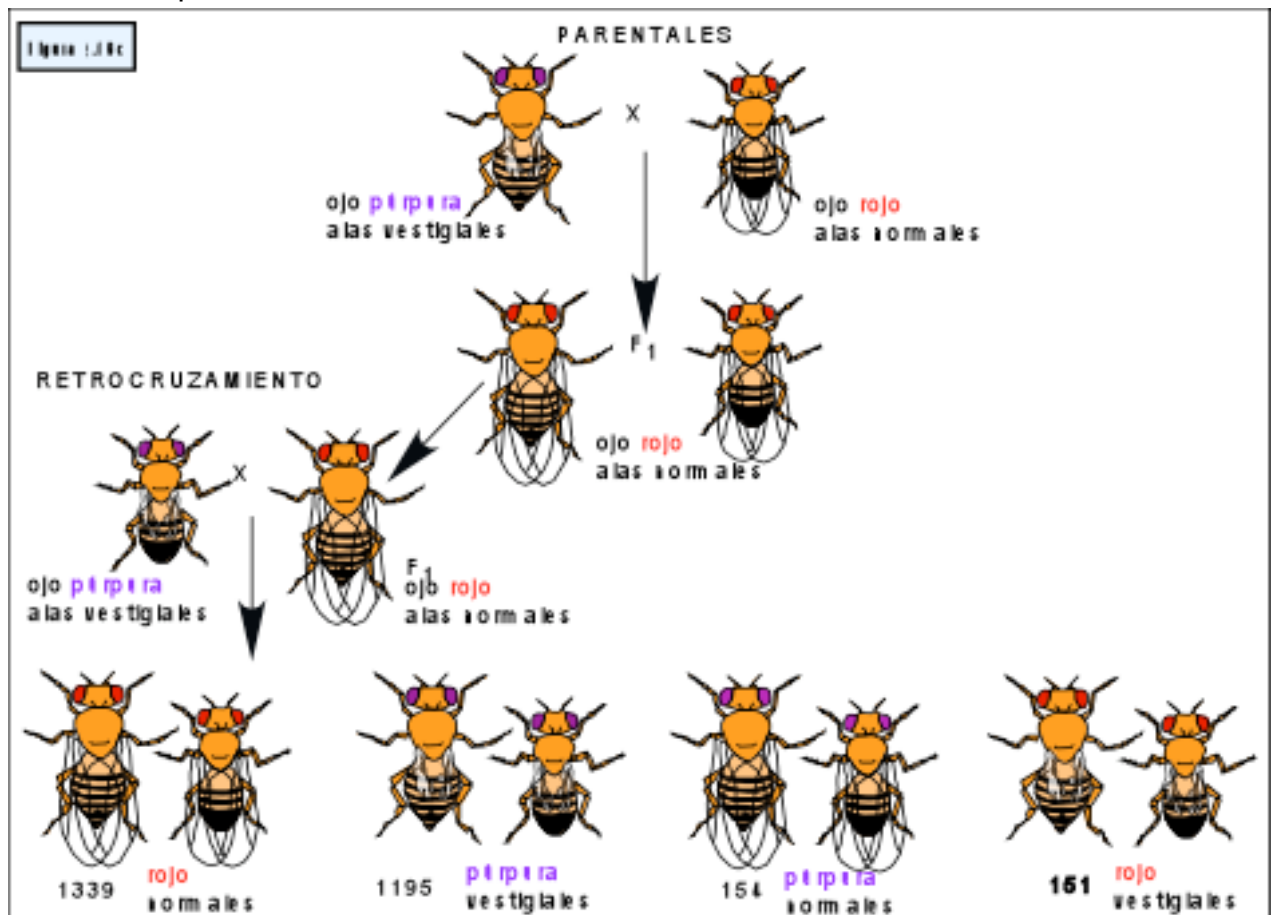


Al trabajar con F2 no se puede apreciar bien si la proporción en que aumentan las combinaciones parentales es la misma en el primer cruzamiento y en el recíproco si lo que disminuyen los no parentales es proporcional

Por otra parte en 1909 Janssens publica sus trabajos sobre meiosis de anfibios y plantea la pregunta “¿por qué dos divisiones tanto en animales como en plantas si con una sola se podría conseguir la haploidía? ¿qué significan esos entrelazamientos que se observan a partir de diplotena entre cromátidas hermanas? ¿se pueden intercambiar las cromátidas?” (Recuérdese que en la fecha no se había probado que los genes estaban en los cromosomas).

De ésta y otras preguntas surge la teoría de los quiasmatipos que propone la existencia de intercambios entre cromátidas, homólogas o hermanas lo que, según sus palabras, “abre el campo a una más amplia explicación citológica de la teoría de Mendel”.

Conociendo este trabajo Morgan retoma los de Bateson y Punnett y les encuentra una explicación analizando casos similares en *Drosophila* (Fig. 4.10c). Consiguen un nuevo enfoque cuando estudian los retrocruzamientos:



E

n el retrocruzamiento, con independencia, se esperaban 1:1:1:1. y en el caso estudiado se observan aproximadamente 8:8:1:1.

Se determina que las combinaciones parentales son más frecuentes y además que no difieren significativamente entre sí, ocurriendo lo mismo con las combinaciones no parentales.

En aquel mismo tiempo Morgan trataba de comprobar la teoría cromosómica de la herencia y propuso explicar la transmisión preferentemente conjunta de dos genes porque se encuentren situados en el mismo cromosoma; pero, ¿cómo explicar las combinaciones nuevas menos frecuentes? Conociendo también que los cromosomas se unían por parejas en la meiosis y que al separarse luego parecía que en algunos puntos quedaban las cromátidas entrecruzadas, propuso que cuando los cromosomas se unían en meiosis se intercambiaban partes de ellos por un proceso que llamó entrecruzamiento.

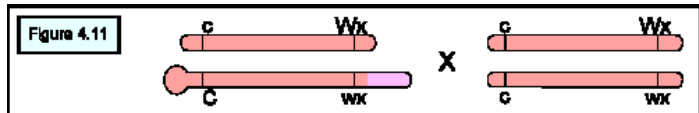
Discutiendo sobre la separación espacial de los genes, a finales de 1911, Morgan plantea una vez más que la diferente fuerza de transmisión conjunta de los genes puede deberse a diferencias en la separación espacial de los genes. En ese momento Sturtevant (entonces era alumno interno) propuso: “Si eso es así se puede establecer la secuencia de los genes de una forma lineal en los cromosomas”.

“Ese mismo día en casa (abandonando mis deberes de clase) utilicé la mayor parte de la noche en realizar el primer mapa cromosómico que incluía los genes

ligados al sexo y, w, v, m, y r.” (Sturtevant, Historia de la genética). El trabajo se publicó en 1913 (ver teoría cromosómica de la herencia).

En 1931 se da un nuevo paso en los conocimientos de la recombinación de la mano de Creighton y McClintock que demostraron la existencia de una correlación entre las nuevas combinaciones génicas y el intercambio entre cromosomas.

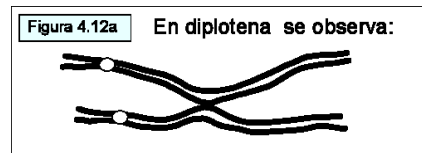
Utilizan variantes para el cromosoma 9 de maíz, tanto morfológicas como génicas. El locus determinante de existencia de color en la semilla (semilla coloreada C>c incolora), se encuentra próximo a un extremo del cromosoma 9 y en ese extremo no todos los cromosomas 9 son iguales, algunos presentan un abultamiento (knob) y otros no. Otro locus determina la textura del polen (ceroso Wx>wx feculento) se encuentra en el mismo brazo pero muy próximo al centrómero y a una translocación del otro brazo (Fig.4.11).



Del análisis de las descendencias se concluye que siempre que hay intercambio entre las partes de los cromosomas homólogos que se detectan por ser heteromorfos, hay intercambio entre los genes asignados a esas regiones.

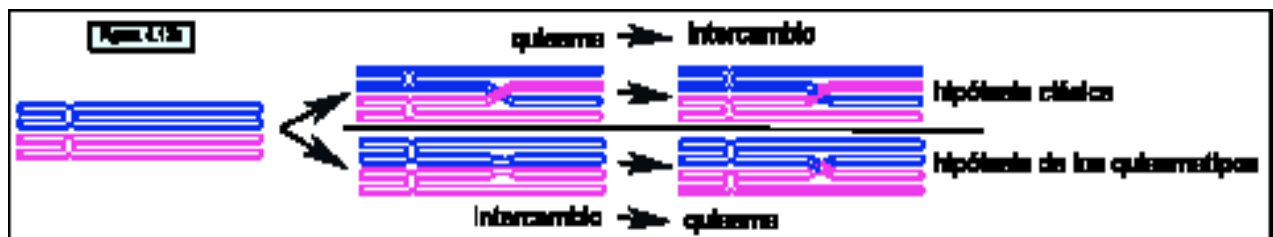
El intercambio entre homólogos se produce de hecho pues aparecen en la descendencia cromosomas con el knob y sin la translocación y viceversa, y el intercambio va acompañado por la recombinación o aparición de nuevas combinaciones de genes.

En los mismos años una nueva polémica se desató entre los citogenetistas: Una vez de acuerdo en llamar entrecruzamiento o sobrecruzamiento al intercambio entre cromátidas, y quiasma al cruce que se observa en diplotena, (Fig. 12a),



¿cual es la secuencia, primero el quiasma y luego el intercambio o primero el intercambio y como consecuencia el quiasma?

La primera alternativa implica un desplazamiento de las cromátidas que se desplazan mientras que en la segunda hipótesis no hay desplazamiento alguno (Fig. 4.12b).



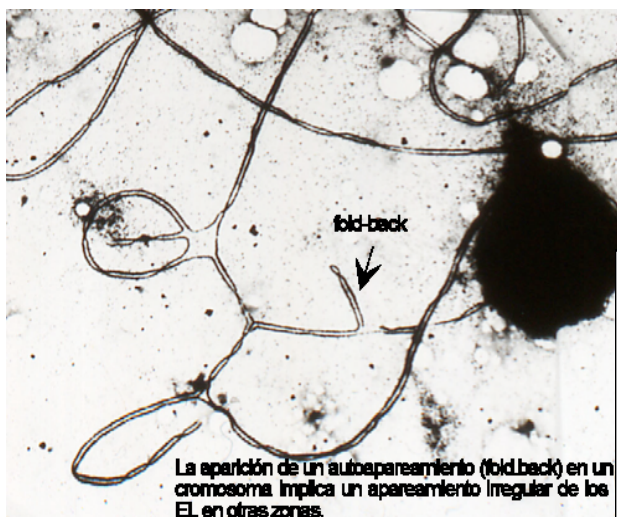
A la primera hipótesis se la denominó “clasica” pues se basaba en las descripciones de Robertson y otros en 1916 y fue defendida fundamentalmente por Sax. La segunda hipótesis se la denominó de los quiasmáticos por estar basaba en las propuestas de Janssens (ver pag. anterior) y fue defendida principalmente por Darlington.

En los años siguientes se presentaron algunas evidencias para demostrar la certeza de la hipótesis defendida por Darlington. Una de ellas fue la observación de bivalentes heteromorfos en meiosis (Fig. 4.13):



Nunca se observaron diplotenas de tipo 1, siempre aparecían las dos cromátidas de extremos iguales juntas.

Durante la paquítina puede analizarse el apareamiento de los cromosomas de modo indirecto, a través de la observación de los elementos laterales (EL) de los complejos sinaptonémicos.

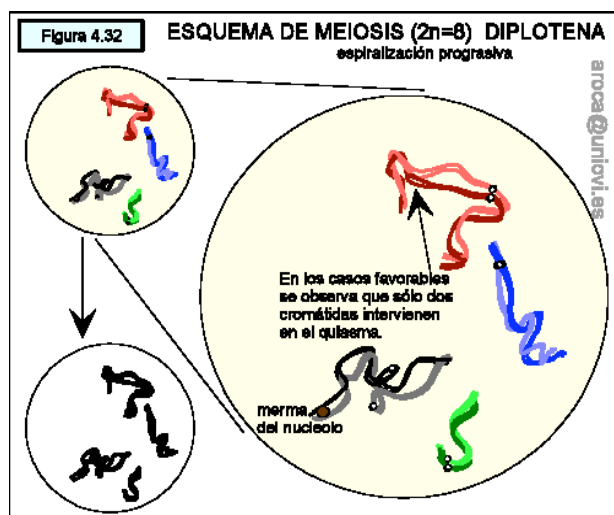


Durante la paquítina también tiene lugar la síntesis de un ADN al que se le denominó paq-ADN o P-ADN; esta síntesis en pequeñas cantidades parece que está relacionada con la reparación de algún trozo de doble hélice en la mayoría de los casos.

El final de la paquítina se caracteriza por la desorganización de los complejos sinaptonémicos, separándose los cromosomas que estaban apareados salvo por las zonas en las que se han producido sobrecruzamientos entre cromátidas homólogas. El nucleolo continúa mermando y la cromatina espiralizándose de tal forma que es normal ver los bivalentes individualmente.

La compactación de la cromatina es tal que normalmente ya no se pueden apreciar cromómeros que por su secuencia permitan identificar cromosomas o fragmentos de éstos

DIPLOTENA: (filamentos dobles) (Fig. 4.32): Es la cuarta etapa de la profase I meiótica durante la cual continúa la espiralización de los cromosomas y la mengua del nucleolo. Los cromosomas que forman los bivalentes tienden a separarse y aparece claramente visible que cada uno de ellos está formado por dos filamentos (cromátidas). Los bivalentes en esta etapa y siguientes presentan una estructura cuádruple que ha



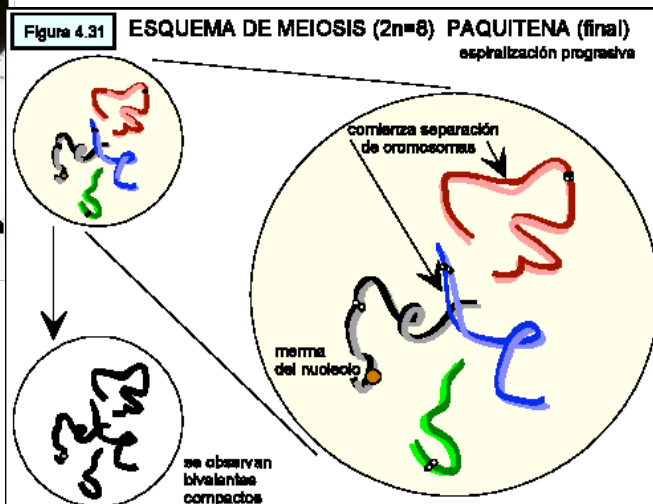
llevado a algunos autores, sobre todo en textos de genética humana, a denominarlos tétradas, pero este término en general está reservado para los conjuntos de 4 productos meióticos que suelen aparecer juntos en el final de las meiosis masculinas vegetales que, por supuesto, no aparecen en textos estrictamente humanos

Desde la diplotena en adelante, coincidiendo con la espiralización de los cromosomas, se va modificando la morfología de los bivalentes no sólo en su longitud, también parecen disminuir los entrecruzamientos.

Así al principio de diplotena las figuras que se observan son semejantes a "coletas" u "ochos encadenados" mientras que al final de la misma etapa, y de forma más

La técnica de extensión permite ver los complejos de células completas en un plano.

La paquítina es fundamentalmente la etapa de la profase I meiótica en la que se produce el sobrecruzamiento (Fig. 4.31).



acusada en la siguiente, disminuye el número de “ochos”. Esta evolución de los bivalentes se interpretó como producida por el movimiento de los quiasmas hacia los extremos de los cromosomas y se le llamó terminalización. Se explicaba en los siguientes términos: al separarse los centrómeros conforme avanza el estado de diplotena, se produce un corrimiento de los quiasmas hacia el extremo libre de los brazos cromatídicos sin que cambie la posición del punto de intercambio entre cromátidas (se desplazan las cromátidas una sobre otra). Este fenómeno que con el tiempo se probó inexistente, iba eliminando quiasmas conforme llegaban al extremo de los cromosomas y culminaba con la separación de homólogos en la metafase I.

La disminución de “ochos” se explica fácilmente si se considera que el bivalente es una estructura formada por 4 cromátidas que se disponen tridimensionalmente enrolladas sobre su eje pero se observan al microscopio en un solo plano y algunas de la superposiciones entre cromosomas pueden semejarse a quiasmas aunque las cromátidas estén separadas espacialmente en la dimensión que se elimina en la observación al microscopio (la profundidad). Con el paso del tiempo la separación entre cromosomas se hace más acentuada perdiéndose enrollamientos hasta quedar únicamente los cromosomas unidos por quiasmas.

Los cromosomas en algún momento de la profase I sufren un proceso de desespiralización que normalmente se incluye en la diplotena. En un principio se describió en términos ambiguos y se le denominó **estado difuso**. (En *Hordeum* es al final de paquitena y en tomate “después de paquitena”).

Se ha descrito en muchas especies y, aunque con peculiaridades específicas se le considera un fenómeno general. Por ejemplo las coníferas comienzan la meiosis en septiembre y se detienen en un estado difuso hasta la primavera. En el tomate (Moens 1964) se describe como la pérdida de avidéz cromática de los cromosomas que se extiende a la vez por todo el núcleo.

Ohno y sus colaboradores describen en la oogénesis de la mujer un especial estado difuso que denomina dictiotena. La meiosis se inicia en fetos femeninos humanos hacia los 4 meses de gestación y en diplotena entran en una etapa de desespiralización en la que permanecen hasta que con la madurez sexual cada mes reanuda la meiosis un óvulo a partir de diacinesis (etapa siguiente de la profase I)

En cuanto al significado del estado difuso hay autores que lo relacionan con un momento de gran actividad sintetizadora para preparar las siguientes divisiones de modo similar a cómo actúan los cromosomas plumosos de los oocitos de anfibios. Sin embargo no es lógico pensar que esto sea general habiendo casos como el de la dictiotena humana que puede durar entre 14 y 45 años o como el caso del paso del invierno en las coníferas. Estos casos claramente podrían definirse como etapas de reposo.

Aunque sean contrapuestas las dos posibilidades no tiene que pensarse que sólo una de ellas se produzca en la naturaleza.

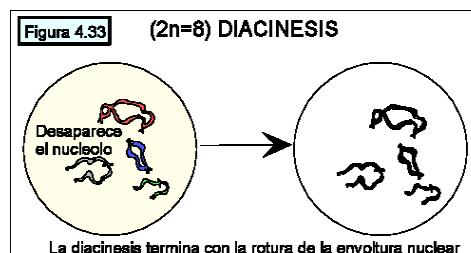
El estado difuso es reversible y en su final los cromosomas vuelven a tomar un aspecto muy parecido al que tenían en el momento de la diplotena en que empezaron a desespiralizarse si bien ahora y durante gran parte de la etapa siguiente (diacinesis) muestran unos contornos poco definidos.

DIACINESIS: (hacia el movimiento) (Fig. 4.32).

Los bivalentes continúan acortándose por espiralización de los cromosomas.

El nucleolo, si es que sigue apreciándose después del estado difuso, sigue disgregándose hasta desaparecer.

Al final de la diacinesis la envoltura nuclear se



desorganiza y los cromosomas, unidos homológamente sólo por los quiasmas, quedan en libertad para asociarse a las fibras del huso que ya ha completado su formación al desplazarse hasta ocupar los polos de la célula.

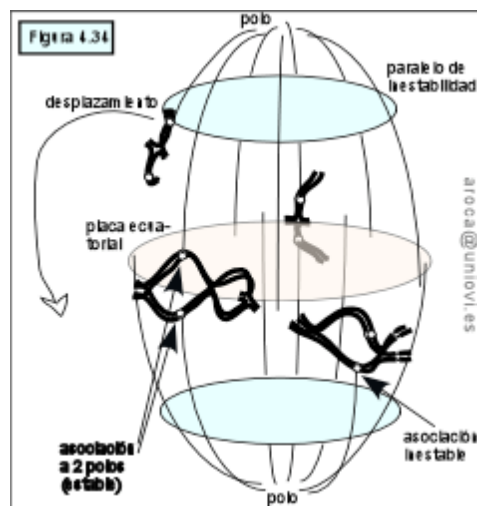
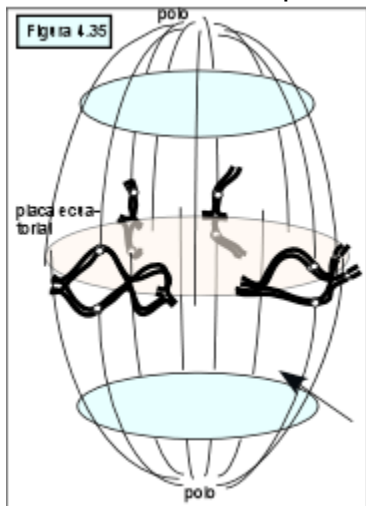
METAFASE I:

Con la desorganización de la envoltura nuclear termina la profase I y los cromosomas comienzan una serie de movimientos que finalizan con el anclaje de los centrómeros a las fibras del huso en el ecuador de la célula, plano que dio en llamarse placa ecuatorial. Los movimientos muy probablemente están producidos por corrientes citoplásmicas acentuadas por la desorganización del citoesqueleto que tiene lugar durante la entrada en división, la formación del huso y la presión de éste sobre la envoltura nuclear en diacinesis que, sin duda contribuye a la rápida desorganización de ésta.

Los cromosomas están asociados formando normalmente bivalentes pero los centrómeros homólogos suelen estar bastante separados ya que es raro que ocurran sobrecruzamientos en sus proximidades. La asociación de cinetocoro con fibras del huso provoca el acortamiento de éstas y con ello la migración a los polos pero esta migración se vuelve inestable si no hay tensión con el otro polo y se sobrepasa lo que se puede llamar determinado paralelo, con lo que el cinetocoro se suelta y sale despedido en dirección contraria (Fig. 4.34).

Cuando los centrómeros homólogos se unen a fibras del huso de distinto polo la estructura cromosómica se estabiliza en la placa ecuatorial tensionándose cada vez más (Fig. 4.35).

Los centrómeros en esta situación son centrómeros completos, se dice que están coorientados y su coorientación se dice que es sintética (sinónimo de que a cada polo emigra un centrómero completo arrastrando dos cromátidas consigo).



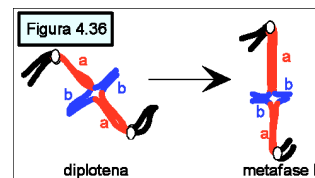
Esta orientación sintética trató de explicarse en términos de una no replicación del ADN del centrómero durante la primera división meiótica.

Como no se encontró síntesis nueva después de paquitena y antes de la anafase II, se desestimó tal posibilidad. En realidad la orientación sintética se produce por la acción de una proteína llamada monopolina que actuando sobre la cohesina (probablemente desplazándola) determina que las dos unidades cinetocóricas se dispongan en paralelo.

La evolución de las formas de los bivalentes durante la fase de tensión de metafase I hizo que se volviese a plantear la posibilidad de la terminalización, del movimiento de los quiasmas hacia el telómero.

Si se miden las distancias relativas que hay entre centrómero y quiasma (**a**) y entre quiasma y telómero (**b**), se ve que varían desde final de diplotena a final de metafase I (Fig. 4.36).

La relación b/a se hacía más pequeña con la maduración, lo que parecía indicar que existía terminalización. Sin embargo marcando con timidina tritiada (Jones 1977) para obtener cromátidas con distinto marcaje, nunca se observó movimiento de cromátidas hacia los telómeros aunque disminuyese b/a .



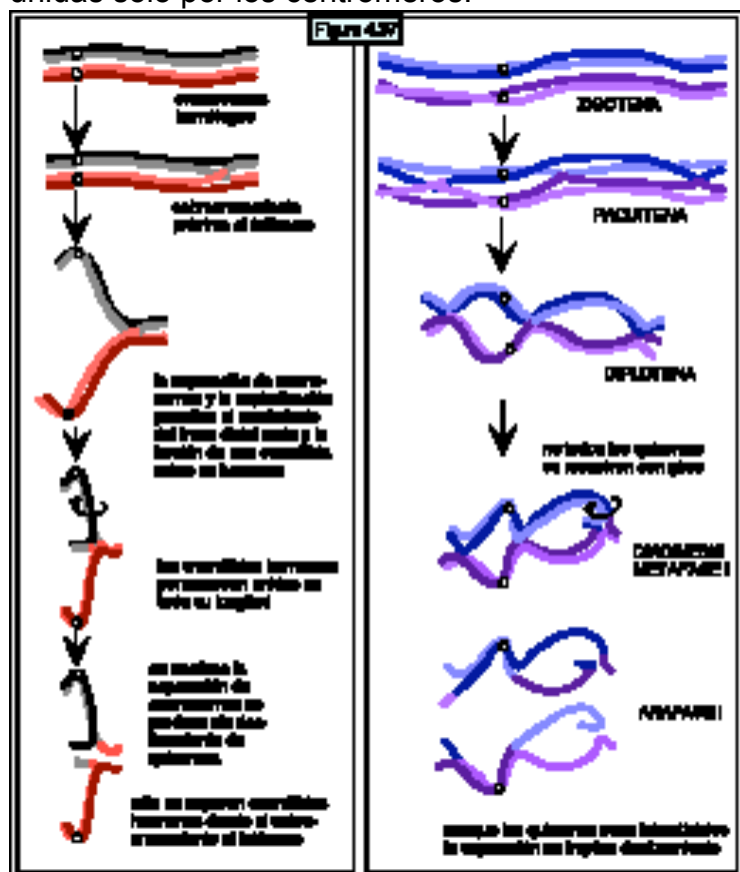
La interpretación más plausible es que **a** crece en relación a **b** por la tensión del huso y **b** puede incluso menguar con la maduración por la progresiva espiralización de los cromosomas. A la disminución relativa de longitudes se llamó **pseudoterminalización**.

Con la separación de los cromosomas del bivalente termina la metafase I. Pero para separarse los cromosomas es necesario resolver el quiasma: Este proceso no debe ser muy costoso o no más de lo que implica romper las uniones proteicas existentes entre cromátidas hermanas cuando fragmentos de éstas (por sufrir recombinación) van a polos diferentes (Fig. 4.37).

El proceso de separación de cromosomas homólogos tiene ciertas similitudes con el de la separación de cromátidas en la mitosis; Las cromátidas hermanas unidas por la cohesina mantienen los homólogos juntos por los quiasmas y cuando existe tensión entre homólogos en la placa metafásica se produce una situación similar al "spindle checkpoint" que desencadena la acción de un APC (complejo promotor de la anafase) que tiene como consecuencias inmediatas la desorganización de la cohesina en toda la longitud de las cromátidas salvo en la zona centromérica que al estar asociada a las monopolinas no es atacable por la separasa. Por otra parte los cromosomas migran a los polos rápidamente por lo que se supone que también en este caso se activan cinesinas encargadas de la despolimerización de microtúbulos.

En ocasiones puede observarse que un par de cromosomas tienen un comportamiento retrasado respecto a los demás, son los llamados heteropicnóticos; suelen ser los cromosomas sexuales y su comportamiento retrasado y de tinción diferente al resto de los cromosomas hace pensar en el comportamiento de la heterocromatina a lo largo del ciclo celular.

Tras la desorganización de la cohesina la separación de homólogos hace que durante la anafase los cromosomas se observen en migración con las cromátidas unidas sólo por los centrómeros.



ANAFASE I: Dura en tanto los cromosomas emigran a los polos.

Las cromátidas que van unidas por el centrómero son en parte hermanas y en parte homólogas (producto de sobrecruzamientos).

TELOFASE I: Al igual que en la mitosis se desespiralizan los cromosomas, se forma la envoltura nuclear y el nucleolo vuelve a organizarse. Estos fenómenos de carácter general, pueden en parte estar ausentes en algunos organismos; incluso se han descrito casos de meiosis en los que los cromosomas pasan directamente de final de anafase I a profase II.

Sin embargo en la mayoría de los casos después de telofase I las células entran en un periodo

de interfase sin síntesis de ADN. De cada meiocito inicial se han formado 2 células hijas que se mantienen juntas sobre todo en vegetales, cada una de las cuales tiene n cromosomas.

2ª DIVISIÓN: Es prácticamente igual a una mitosis y muchísimo más corta que la primera división meiótica. En anafase II emigran cromátidas a los polos y al final del proceso si se completa se forman 4 productos meióticos con n cromosomas cada uno.

La coorientación de medios centrómeros a cada polo en la 2ª división meiótica, al igual que en la mitosis, recibe el nombre de **anfitélica**.

CROMOSOMAS B:

La información genética de los eucariotas no se encuentra solamente en los cromosomas normales (cromosomas A) hay miles de elementos autónomos que no obedecen a las leyes mendelianas de la herencia. La mayoría de estos elementos son los transposones, elementos citoplásmicos y cromosomas B.

Dentro de los cromosomas B se incluyen una serie heterogénea de cromosomas (también llamados supernumerarios, accesorios o cromosomas extra). Esta heterogeneidad hace muy difícil establecer descripciones y comportamientos generales y la casuística está plagada de excepciones y casos anómalos, sin embargo al tratar de estudiarlos en su conjunto se pueden establecer las siguientes conclusiones: Están presentes en algunos individuos de algunas poblaciones de bastantes especies de animales y vegetales y que difieren de los cromosomas A's en las siguientes **características**:

- 1.- No son indispensables para el organismo.
- 2.- Presentan herencia no mendeliana (se acumulan preferentemente).
- 3.- En números bajos para la especie no afectan de manera importante la eficacia biológica. Los números relativamente altos conllevan la disminución de la fertilidad y de la tasa de crecimiento.
- 4.- No manifiestan genes de efecto mayor siendo sus efectos fenotípicos de variación continua.
- 5.- Su morfología es bastante uniforme en cada especie y diferente a la de los cromosomas A's; suelen ser pequeños y en su mayor parte heterocromáticos.
- 6.- En mitosis durante el desarrollo, pueden sufrir no disyunción sistemática produciéndose variaciones en su localización dentro de un individuo.

Morfología (Fig. 5.1):

Dentro de una gran variación existente los cromosomas suelen ser submetacéntricos con el brazo largo casi completo de heterocromatina, y normalmente más pequeños que los cromosomas A's.

A partir de esta morfología más común se pueden encontrar casos de isocromosomas de brazo corto o isocromosomas de brazo largo producidos por misdivisión.

Distribución:

Los B's se han descrito en más de 1300 especies vegetales y en alrededor de 500 especies animales y no se han buscado exhaustivamente en muchas especies; hay B's en un 5% de monocotiledóneas que se han escrutado ampliamente y en un 3.5% de dicotiledóneas.

Dentro de una especie no hay B's en todas las poblaciones ni dentro de una población con estos cromosomas se presentan en todos los individuos. Además tampoco están en igual número en los individuos portadores, predominan los números pares de forma sistemática por su modo de transmisión con acumulación. Como ejemplo en centeno (*Secale cereale*) se encontraron cromosomas B en el 90% de las poblaciones de Japón, en el 75% de las coreanas y en el 50% de las yugoeslavas (vaya Vd. a saber de donde son ahora).

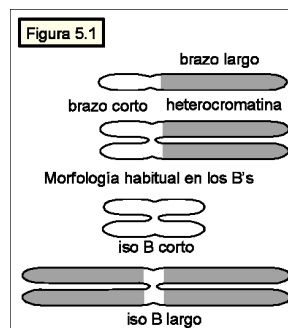
En algunos casos los cromosomas B sólo aparecen en algunos tejidos. Es el caso de *Aegilops mútica* y *Ae. speltoides* (triticíneas) que sólo presentan B's en los órganos aéreos, estando ausentes en las raíces.

Mitosis:

Suelen comportarse normalmente con excepción de los casos ya descritos de no disyunción en anafase. En la mayoría de los casos son heteropicnóticos.

Sufren a menudo misdivisiones, retrasos en placa y se pierden fácilmente.

Normalmente en vegetales los fenómenos de acumulación se producen durante las mitosis postmeióticas de las gametogénesis pero en animales, al menos en algunos



casos conocidos, la acumulación se produce en la meiosis (2ª div.) siendo las mitosis totalmente regulares.

Meiosis:

Durante el principio de la meiosis los B's suelen comportarse con normalidad, en zigotena se sitúan periféricamente y no aparean con los cromosomas A's (en centeno se han encontrado apareamientos fragmentarios en un 5% de las células analizadas por complejos sinaptinémicos en plantas con 1 cromosoma B). Si hay varios B's los números pares dan menos problemas que los impares y cuando son varios pares los problemas de apareamiento se hacen mayores pero lo que se resiente es el apareamiento general en el meiocito.

Cuando llega el momento de emigrar a los polos no se comportan igual los cromosomas B's de todas las especies; como ya se ha indicado algunas tienen acumulación precisamente durante este momento de la meiosis.

Además se han descrito en B's los problemas típicos de los cromosomas pequeños, pérdidas, univalentes, coorientación anfitélica en anafase I.

Acumulación:

Es el proceso que determina la herencia no mendeliana de los B's. Como ejemplo se presenta la acumulación durante la gametogénesis tanto masculina como femenina en plantas, concretamente maíz (Fig. 5.2).

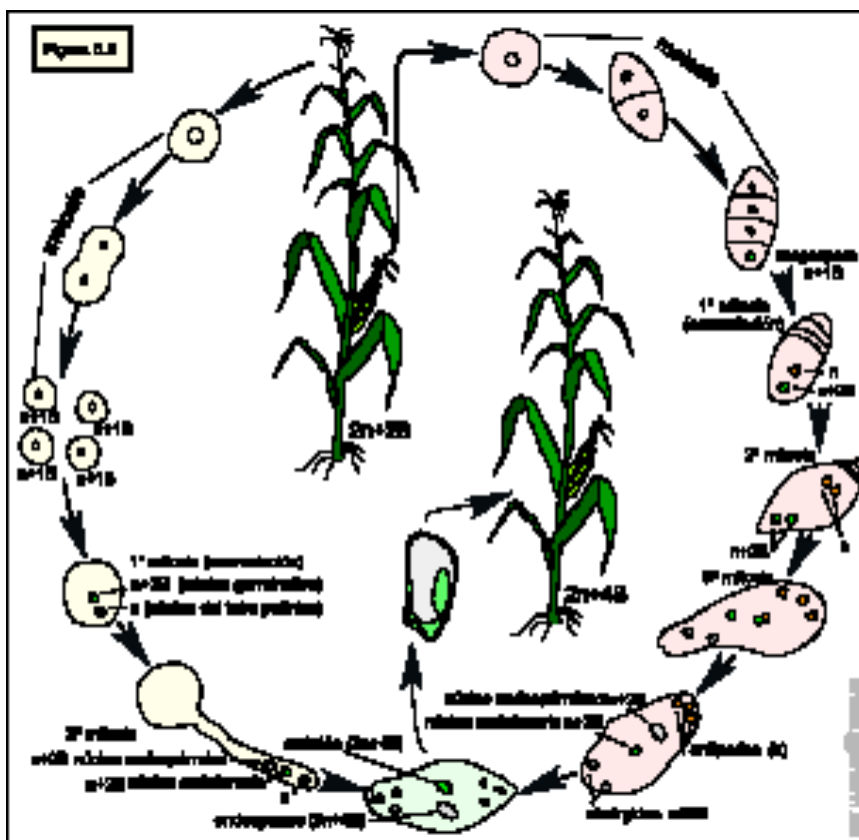
En la línea masculina y en la primera mitosis después de la meiosis, cada B se retrasa en anafase y las dos cromátidas hijas no se separan en ese momento de tal suerte que en las dos células hijas se encuentran diferencias en la cantidad de B's, una se queda sin ellos y la otra pasa a tener número doble.

El núcleo de acumulación de los B's es el germinativo mientras que el otro es el del tubo polínico (el núcleo germinativo todavía sufre una segunda mitosis, ya normal dando lugar al núcleo germinativo y al endospermico).

En la línea femenina ocurre más o menos lo mismo con acumulación en generativo y sinérgidas y eliminación en antípodas.

Existe un control de la acumulación situado en la región distal del cromosoma B y que actúa en cis (sólo sobre el B).

El control podría muy probablemente responder a un efecto secundario de la heterocromatinización en conjunción con unas divisiones (más hipotéticas) en las que se acortan los tiempos que duran la fases o con algún otro mecanismo que determine que los cromosomas B's no migren, se colapsen y luego queden integrados en uno de los núcleos, probablemente en el que se quede con la mayor parte del citoplasma.



Origen y evolución:

El que se hayan encontrado secuencias de los A's en todos los B's que se han analizado deja claro el origen de este tipo de cromosomas: los B's derivan de los A's.

Analizando las secuencias contenidas en los B's se ha postulado como origen tanto cromosomas sexuales como autosomas y tanto intraespecíficos como interespecíficos. Este último tipo pone de manifiesto la posibilidad de un origen exógeno en algunos cromosomas supernumerarios, si bien parece ser que son los menos por la escasa casuística encontrada.

Las secuencias también indican la existencia de derivados de cromosomas portadores de regiones del organizador nucleolar (NOR). En la mayoría de los B's se encuentran secuencias de DNA repetidas (pueden o no servir para identificar cromosomas) y en muchas ocasiones secuencias derivadas de transposición (por acumulación de estas secuencias puede entenderse que llegue a formarse un cromosoma extra o al menos que se alargue lo suficiente para resultar estable si por tamaño no lo fuese, de la misma manera que por transposiciones se pueden explicar las diferencias de tamaño de los cromosomas Y en algunos mamíferos).

Se ha descrito que los cromosomas B's de vegetales tienen como norma general en cada especie una morfología determinada lo cual hace pensar en un origen común, pero ese origen común es difícilmente explicable en casos como el del centeno donde poblaciones yugoeslavas y coreanas cuyos B's son morfológicamente iguales y pertenecen a poblaciones perfectamente aisladas geográficamente.

Por otra parte además de la misma forma los B's se caracterizan por ser en su mayor parte heterocromáticos, heteropicnóticos y de comportamiento singular. Estas tres características las tienen los cromosomas sexuales de muchas especies o al menos tienen la capacidad de comportarse como tales. No se trata de hacer sospechar que los B's son cromosomas sexuales extra, pero podrían explicarse por la conjunción de las características de heterocromatinización de un cromosoma extra (derivado de un A y con un sistema de inactivación incorporado), comportamiento específico y aislamiento de los A's (en principio podría ser simplemente la diferencia de tamaño respecto al resto de los cromosomas).

Anomalías numéricas y mecanismos como algunas anomalías estructurales que se verán en su momento podrían explicar el origen de este tipo de cromosomas.

Por último los B's pueden ser un importante vehículo de evolución, su inactivación permite una alta tasa de cambios y su aislamiento imperfecto respecto a los A's la reincorporación de variabilidad el genoma principal o la importación si son B's de origen exógeno.

En un tema tan especulativo en su exposición debe citarse alguna bibliografía que lo trate con más extensión:

J.P.M. Camacho et al (2000) Phil. Trans R. Soc. Lond. B. 355, 163-178

VARIACIONES CROMOSÓMICAS:

Una vez definida la constancia en el número y la morfología de los cromosomas de una especie, los casos en los que se modifica esta constancia se agrupan bajo el nombre de variaciones cromosómicas o anomalías cromosómicas o mutaciones cromosómicas o cromosomopatías, en humanos.

Como ejemplo para poner de manifiesto la importancia de las anomalías cromosómicas, las estadísticas en humanos indican que una de cada 2 concepciones (no nacimientos sino cigotos) pueden tener algún cromosoma de más o de menos; el 70% de las muertes precoces del embrión y de los abortos espontáneos se deben a alteraciones en el número de cromosomas; 1 de cada 170 nacidos vivos tiene los mismos problemas (si bien pueden ser mosaicos) y producen del 5 al 7% de las muertes en los primeros años de la niñez. Los datos están aportados por Cummings pero lo más impactante es que los humanos tienen una tasa de cambios en el número de cromosomas 10 veces menor que la de otros mamíferos, incluidos primates.

Históricamente cuando se empezaron a estudiar los cromosomas, su morfología y su contenido se distinguió perfectamente entre las mutaciones génicas y las cromosómicas. Las primeras provocan cambios fenotípicos en el individuo y no van acompañadas de modificaciones en la morfología de los cromosomas. Las mutaciones cromosómicas suponen cambios en los cromosomas y no tienen que ir asociadas en todos los casos a cambios fenotípicos..

DEFINICIÓN: Se considera variación cromosómica a cualquier cambio que afecte a la disposición lineal de los genes sobre los cromosomas o al número de éstos.

CLASIFICACIÓN:Atendiendo a la definición dada, las anomalías cromosómicas se clasifican en:

VARIACIONES ESTRUCTURALES y VARIACIONES NUMÉRICAS.

Las variaciones numéricas suponen, respecto al número de cromosomas de la especie, un cambio en el número de cromosomas del individuo analizado.

En cuanto a la variaciones estructurales, antes de definir las se debe considerar que en este programa con anterioridad se habló de la estructura del cromosoma refiriéndose a la composición molecular y a los cambios habidos a lo largo del ciclo celular, pero al hablar de anomalías el término estructural nada tiene que ver con la composición y sólo se justifica desde el punto de vista histórico: En el año 1929 Darlington definió la estructura de los cromosomas como el orden potencialmente lineal de partículas, cromómeros o genes en los cromosomas. Teniendo presente este concepto darlingtoniano, las variaciones estructurales se definen como **CUALQUIER CAMBIO EN LA DISPOSICIÓN DE LOS GENES O FRAGMENTOS CROMOSÓMICOS.**

TIPOS DE VARIACIONES ESTRUCTURALES: Para establecer una clasificación de las anomalías estructurales se atiende normalmente a la combinación de dos criterios diferentes: Número de cromosomas implicados y existencia de pérdida o ganancia de material cromatínico.

Las variaciones estructurales que suponen pérdida de material cromosómico (y afectan por supuesto solamente a un cromosoma) son las deleciones.

Las variaciones estructurales que implican ganancia de material cromatínico por multiplicación de un segmento cromosómico son las duplicaciones y suelen afectar a un solo cromosoma. (Cuando el segmento duplicado se encuentra en otro cromosoma se supone que además de la duplicación ha ocurrido otro cambio cromosómico).

En otros casos no hay ni pérdida ni ganancia de material, el cambio consiste en una alteración en el orden o disposición de los genes en los cromosomas.

Cuando ocurre un cambio en el orden de genes o segmentos cromosómicos sin desplazamiento a otro lugar de cromosomas o a otro cromosoma se trata de una inversión que, por tanto, afecta a un solo cromosoma.

Por último, aquellos casos en los que lo que cambia es, por desplazamiento, la posición de los genes o segmentos cromosómicos, se trata de una translocación que

puede implicar a un solo cromosoma (si el desplazamiento es de una zona a otra del mismo cromosoma) o a dos cromosomas si hay paso de un segmento de un cromosoma a otro o se intercambian dos segmentos de diferentes cromosomas.

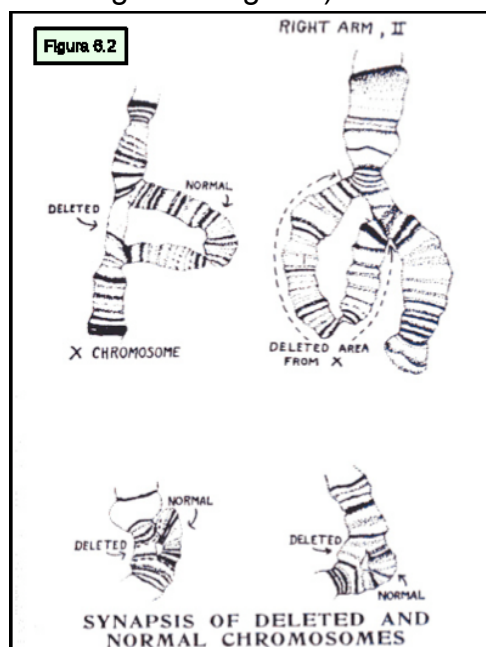
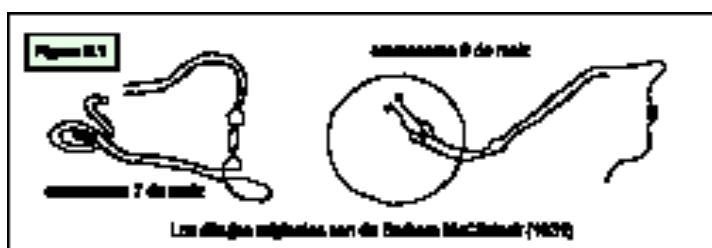
DELECIÓN:

Este término fue acuñado por Painter y Muller en 1929 que definieron la deleción como: Cambio estructural que tiene como resultado la pérdida de una parte del material hereditario y de la información genética contenida en un cromosoma de eucariotas o procariotas.

La primera descripción de una deleción se debe a Bridges en 1917 que trabajando con moscas con reducción de ojos le aparecen unas de ojos blancos y en proporciones tales que se explican por pérdida de un segmento cromosómico.

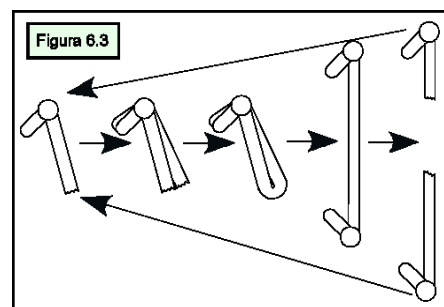
Las observaciones citológicas primeras se deben a Painter en cromosomas politénicos y a McClintock en maíz (Fig. 6.1).

En eucariotas cuando el segmento que se pierde es terminal se llaman **DEFICIENCIAS** (Bridges 1917) y cuando es intersticial se llaman **DELECCIONES**. (Dibujos originales de Bridges en Fig. 6.2).



Se ha discutido la estabilidad de las deficiencias al carecer de telómero; concretamente McClintock en 1941 propone los ciclos fusión - puente - rotura en los casos de ausencia de telómero (Fig. 6.3). El fenómeno observado en el maíz es que al replicarse los cromosomas que han perdido un telómero fusionan las dos cromátidas por lo que en la anafase siguiente se formará un puente que se romperá de manera

prácticamente aleatoria y así sucesivamente por lo que estos cromosomas con deficiencia a la larga no son viables.



CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS: Al ser una pérdida de material la deleción presenta características muy específicas y que resultan obvias.

La deleción no sufre retromutación.

La deleción no tiene recombinación.

Los heterocigotos para la deleción resultan hemocigotos para los genes del segmento perdido por lo que se manifiestan los alelos recesivos. Esto tiene especial interés en los casos de funciones génicas sometidas a procesos de *imprinting*.

La consecuencia lógica de la ausencia de recombinación es la modificación de las distancias genéticas pero además en estudios de *Drosophila* se ha comprobado que disminuye la frecuencia de sobrecruzamientos en las zonas próximas a los puntos de rotura, que se explicarían seguramente por problemas en el apareamiento.

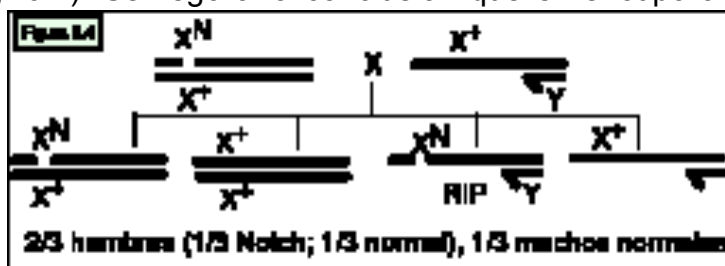
Las deleciones pueden ser útiles en la localización de genes en los cromosomas, y en la elaboración de mapas genéticos así como en la integración de éstos con mapas físicos.

En algunas ocasiones las deleciones son letales en homocigosis y en algunos de estos casos además los heterocigotos presentan un fenotipo anómalo, es decir, las deleciones se comportan como caracteres dominantes y letales en homocigosis.

Como ejemplo ilustrativo del comportamiento genético de la deleciones, se presenta el caso de **Notch**, carácter de *Drosophila melanogaster* estudiado por Bridges en 1917, y que, siendo dominante y letal en homocigosis produce una escotadura en el ala de la mosca. Además es un carácter ligado al sexo por lo que los machos nunca lo presentan.

El análisis citogenético de los cromosomas politénicos demostró que las hembras Notch eran portadoras de una deleción en el cromosoma X que se localiza en el segmento 3 de los politénicos (Fig. 6.4). Se llegó a la conclusión que el fenotipo ala escotada (Notch) era producido por una sola dosis de la deleción y en homocigosis la deleción resultaba letal para la mosca.

Notch $X^N > X^+$ normal; $X^N Y = RIP$



Se encontraron otros mutantes Notch de distinto origen y otros se indujeron estudiándose en profundidad su conjunto por Welshous en 1974 (Fig. 6.5).

Fig. 6.5	mutante	extremos	2D	2E	2F	3A	3B	3C	3D	3E
265-11	3A2 - 3C3-4									
265-14	3A3 - 3C1-2									
N-8	3B4 - 3D6									
264-36	2D3 - 3E2									
264-38	3A3 - 3D2									
264-30	3A4 - 3C6-7									
264-31	3B4 - 3D2									
264-32	3C6-4 - 3C7									
264-33	3C6 - 3C7									
264-37	3C6 - 3C7									
264-38	3C6 - 3C7									
264-2	3C6 - 3C7									
264-19	3C6 - 3C7									

El segmento mínimo para producir Notch es el 3C6-7. Parece suficiente la deleción de algún segmento de la región 3C para que se produzca la escotadura del ala.

Con algunos mutantes de Notch se ha puesto de manifiesto la existencia de la deleción por medios estrictamente genéticos; son los trabajos de Slizynska en 1939 que se aprovechan a la vez para ilustrar cómo se puede mediante el empleo de deleciones establecer un mapa físico de determinados loci (localizar físicamente en el cromosoma el lugar ocupado por un locus concreto).

Se representa Notch ; la ausencia de Notch ; el alelo para ojo blanco (recesivo ligado al sexo) *w* y el alelo normal *+*.

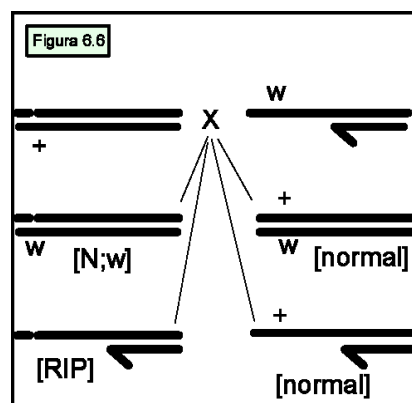
Una hembra Notch (N-8) cruzada con un macho white produce una descendencia 1/3 de machos normales; 2/3 de hembras (1/3 normales y 1/3 Notch y además de ojo blanco) (Fig. 6.6). La aparición del fenotipo white con un solo gen que proviene del padre tiene que ser debido a la hemicigosis del segmento cromosómico donde se localiza el locus *w*; por tanto ese segmento cromosómico no se recibe en las hembras que heredan el cromosoma Notch de su madre. Notch es una deleción.

Por otra parte analizando los cromosomas politénicos se puede determinar qué segmento falta en Notch (en el caso de la cepa N-8 es 3B4 - 3D6), en ese segmento tiene que estar incluido el locus white pues al coincidir un cromosoma con N-8 y otro con *w*, este último se manifiesta aunque es recesivo. Con distintas cepas portadoras de

distintas deleciones en la zona,productoras de Notch se puede llegar a determinar que white se encuentra localizado en el segmento 3C2.

Este método de elaboración de mapas se ha utilizado con éxito en numerosos organismos siendo quizás los trabajos más conocidos los de la región rII del fago T4 de *E. coli*.

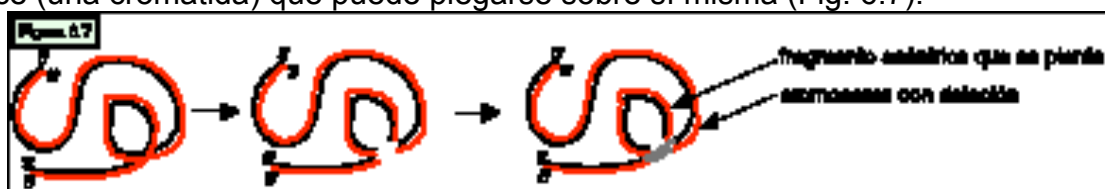
Como consecuencia genética de las deleciones debe citarse que cuando el fragmento perdido es suficientemente grande se produce la muerte del portador. Concretamente en *Drosophila* se ha establecido que las deleciones de menos de 50 bandas en heterocigosis no son deletéreas para los portadores. Se trata sin duda de un tamaño medio ya que no todo el genomio es uniforme.



MITOSIS: Salvo en el ya mencionado caso de las deficiencias, la mitosis de los portadores de una deleción suele ser normal sin más problemas que los que se deriven de la información que se encuentra ausente.

MEIOSIS: En los heterocigotos tampoco presentan las deleciones problemas produciéndose 1/2 de gametos normales y 1/2 portadores de la deleción. Los homocigotos, si son viables no presentan ningún tipo de problema y todos sus gametos serán portadores de la deleción.

FORMACIÓN DE DELECIONES: Al igual que en otras anomalías estructurales las deleciones pueden producirse sin excesivas dificultades si se considera una sola doble hélice (una cromátida) que puede plegarse sobre sí misma (Fig. 6.7).



De la misma manera se pueden perder zonas muy próximas al telómero y dar apariencia de deficiencia sin pérdida de la capacidad telomérica del extremo del cromosoma. De no ser así las deficiencias deben ir acompañadas de la telomerización del extremo del cromosoma para evitar ciclos fusión - puente - rotura.

IDENTIFICACIÓN: Además de por sus características genéticas las deleciones pueden detectarse e identificarse por métodos fundamentalmente citogenéticos. La alteración en la morfología de los cromosomas o de sus patrones de bandas en mitosis permite identificar la existencia de deleciones e incluso en los casos favorables la determinación del fragmento perdido.

En cromosomas meióticos es relativamente sencillo identificar deleciones en heterocigosis en las etapas en que los cromosomas se encuentran apareados homológamente; en paquitena pueden con tinciones tradicionales seguirse las secuencias de cromómeros e identificar las faltas de éstos (también podrían así detectarse los homocigotos) pero además suelen quedar bien patentes los problemas de apareamiento en la zona de la deleción pues se forma un bucle del segmento que se encuentra en una sola dosis. Para este tipo de análisis es especialmente apropiada la técnica de "spreading" de células en paquitena y observación al microscopio electrónico de los elementos laterales de los complejos sinaptinémicos, donde las diferencias morfológicas entre los homólogos se ponen de manifiesto por la falta de apareamiento de los elementos laterales. En los casos en los que las deleciones son suficientemente grandes pueden detectarse en etapas posteriores de las meiosis, cuando los cromosomas están más espiralizados, si los marcadores morfológicos lo permiten.

Sin duda el mejor material para el estudio de deleciones, igual que en otras anomalías son los cromosomas politénicos (por supuesto sólo es posible en las

especies que los presentan) en los que tal como se presenta en las reproducciones de los dibujos de cámara lúcida de Painter pueden determinarse las zonas perdidas con mucha precisión por las típicas figuras que se forman.

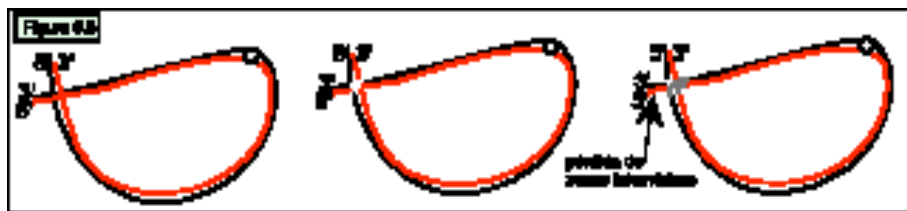
Sin embargo con estas técnicas no se pondrían de manifiesto las microdeleciones. Para su identificación debe recurrirse a técnicas de hibridación "in situ" (si se dispone de la sonda adecuada) para localizar la falta de marca en un cromosoma o bien la hibridación en un "blot" si la homocigosis lo permite.

DELECCIONES EN EL HOMBRE: Las pérdidas de material cromosómico son peor soportadas por los seres vivos que las ganancias, las deleciones en especies como la humana que permiten detectar no solo cambios físicos sino también los psíquicos, se ve que producen efectos dramáticos en cuanto su tamaño es algo grande, se pone como ejemplo el caso del maullido de gato, síndrome provocado por la deleción p15 del cromosoma 5. Son especialmente interesantes algunos casos de microdeleciones como la que produce los síndromes de "angelman" y de "Prader -Willi"; ambos síndromes se producen por la misma deleción en heterocigosis (15q11-q13), si el cromosoma portador de la deleción es el paterno se desarrolla el "Prader Willi" y si es el materno se detecta el "angelman". Estas diferencias debidas a la metilación diferencial de los cromosomas según su origen se verá con más detalle posteriormente.

IMPORTANCIA EVOLUTIVA DE LAS DELECCIONES: No parece que las deleciones tengan un papel evolutivo importante ya que las pérdidas no se pueden explicar como beneficiosas al menos en principio.

CROMOSOMAS EN ANILLO: Un caso especial de doble deficiencia es el que produce los cromosomas circulares o en anillo. Al perder los extremos teloméricos los extremos de los cromosomas se tornan cohesivos cerrando el cromosoma sobre sí mismo (Fig. 6.8).

Dependiendo de la cantidad de material hereditario que se pierda con los telómeros los cromosomas

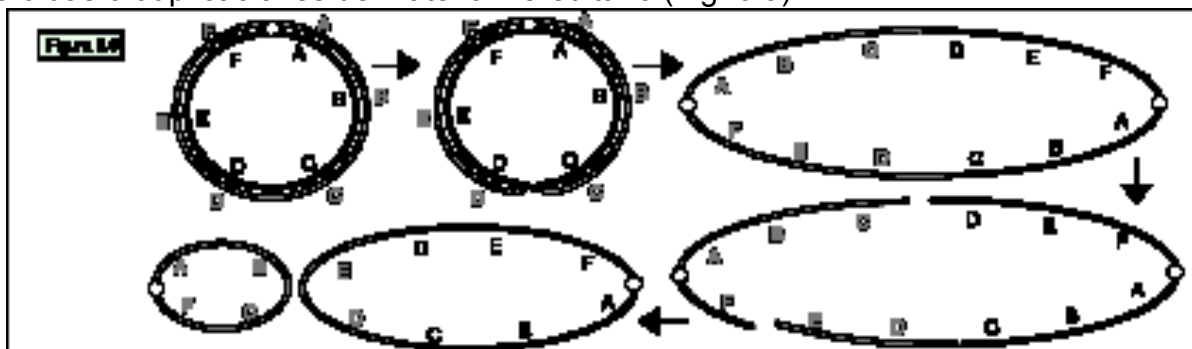


anulares son más o menos viables. En algunas plantas pasan desapercibidos fenotípicamente y en el hombre suelen tener efectos negativos en muchas ocasiones.

Al final del capítulo se presenta un caso de cromosoma en anillo en el hombre sin consecuencias fenotípicas.

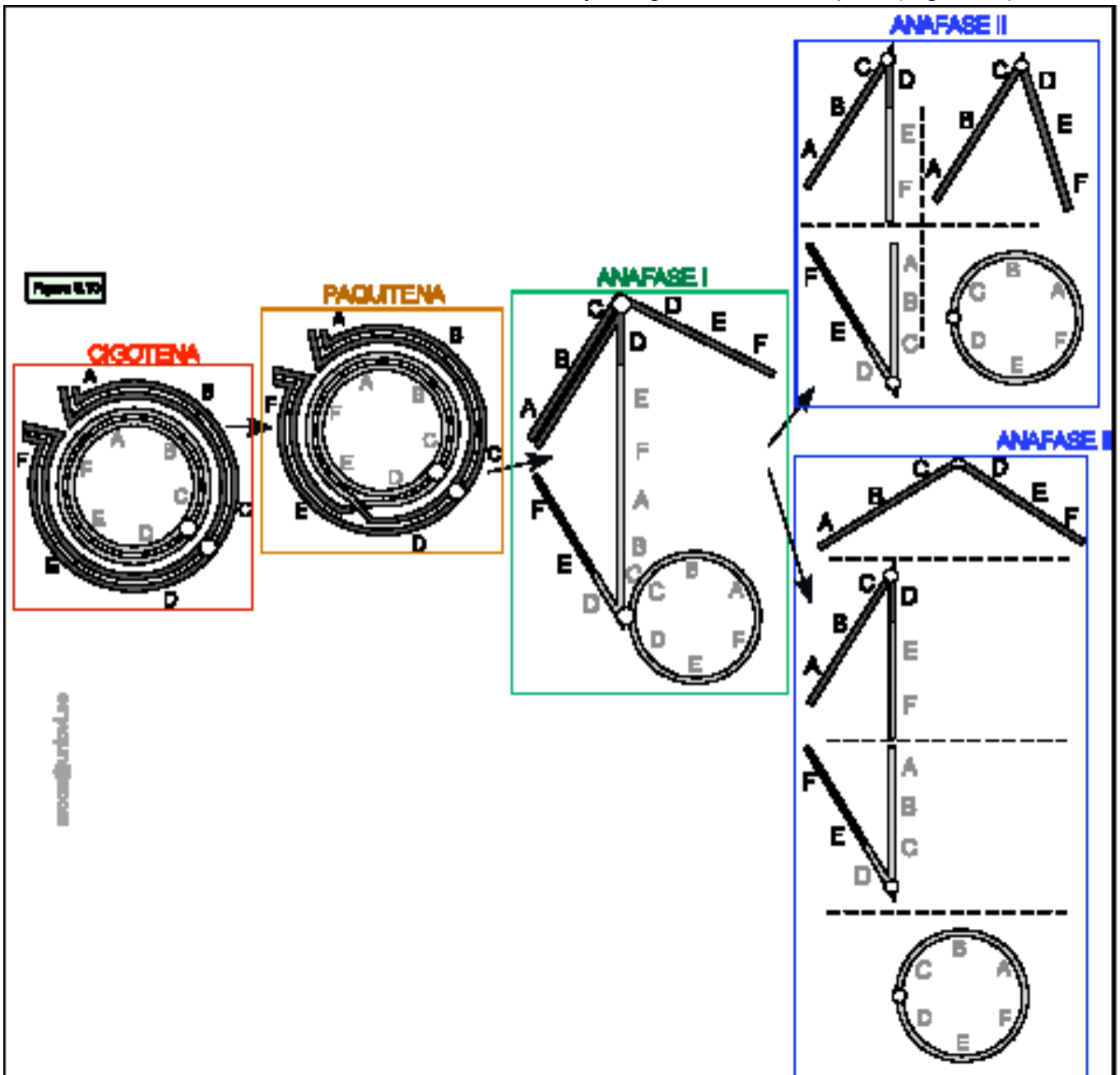
Para un mismo cromosoma circular no siempre se producen los mismos fenotipos pues pueden tener problemas en el desarrollo embrionario.

MITOSIS: Son cromosomas normalmente estables en la mitosis, sin problemas en la separación de sus cromátidas circulares a los polos, pero en los casos en que se produce algún sobrecruzamiento somático pueden tener como consecuencia más pérdidas o duplicaciones de material hereditario (Fig. 6.9).



En la anafase mitótica se produce un doble puente por lo que muy probablemente el cromosoma circular doble se romperá por cualquier sitio dando lugar a dos nuevos cromosomas anulares, uno en cada célula hija, que no tienen por qué ser equilibrados en su dotación genética. Estos procesos quizás podrían justificar que cromosomas anulares prácticamente iguales, en distintos individuos den lugar a mosaicos con síndromes diferentes en algunos casos.

MEIOSIS: Normalmente se consideran casos de heterocigosis por lo que el anillo debe aparearse por homología con un cromosoma lineal o en bastón. Si no se producen sobrecruzamientos entre los dos cromosomas y emigra uno a cada polo (Fig. 6.10), se



formarán 1/2 de gametos con el cromosoma bastón y 1/2 de gametos con el anillo. Si se produce un sobrecruzamiento se formará un puente en anafase I y, si se forman 4 productos meióticos, la mitad de los gametos serán muy probablemente desequilibrados (y en todo caso bastones carentes de un telómero por lo que entrarán en ciclos fusión - puente - rotura), 1/4 bastones y 1/4 anillos.

En las meiosis de las hembras de algunas especies los planos de división son paralelos y el gameto suele formarse en el meiocito de uno de los extremos. De esta

forma el material cromatínico que forma el puente en anafase I siempre se queda en las dos células centrales y no forman nunca gametos.

Como por otra parte el material cromatínico que forma el puente es el que puede dar lugar a gametos desequilibrados, este tipo de productos no se forman nunca.

Este fenómeno se observó en hembras de *Drosophila* y en flores femeninas de maíz se sospecha que puede ocurrir de la misma forma.

Ya sea por la disposición paralela de planos de división o por la sucesión de ciclos fusión - puente - rotura, los productos desequilibrados no suelen ser viables cuando se produce un puente en anafase I. (Los puentes en anafase no sólo se producen por cromosomas circulares y se volverán a ver los mismos efectos al hablar de duplicaciones e inversiones).

Cuando el cromosoma circular es lo suficientemente grande es probable que se produzcan dos o más sobrecruzamientos entre anillo y bastón.

Cuando se producen dos sobrecruzamientos las combinaciones de cromátidas que intervienen en el segundo, respecto a las que lo hacen en el primero son:



Se dicen recíprocos cuando en el 2º sobrecruzamiento intervienen las mismas cromátidas que en el 1º. Son complementarios cuando en el 2º intervienen las dos cromátidas que no lo hacen en el 1º. En los casos en que intervienen tres cromátidas pueden distinguirse dos tipos si se diferencia entre homólogos, numerando las cromátidas de 1 a 4 (1 y 2 pertenecen a un homólogo y 3 y 4 al otro) serán diagonales I cuando la cromátida 3 interviene en los dos sobrecruzamientos y la 4 en ninguno (una cromátida en anillo no interviene en los sobrecruzamientos) y por último diagonales II serán los casos en que la cromátida 1 no interviene en ningún sobrecruzamiento y la 2 en los dos (una cromátida en bastón no interviene en los sobrecruzamientos).

Los heterocigotos para un cromosoma circular son especialmente interesantes para el estudio de las 4 clases de dobles sobrecruzamientos, en primer lugar porque se distingue perfectamente entre los dos cromosomas, homólogos por ser de distinta morfología y las dos clases en que intervienen tres cromátidas (diagonales I y diagonales II) son fácilmente diferenciables ya que en las de tipo I sólo interviene una cromátida del anillo y en las de tipo II sólo interviene una cromátida del cromosoma en bastón; pero además esta distinta morfología determina que en anafase I y en anafase II se produzcan configuraciones no habituales. Los primeros trabajos en este sentido se deben a Schwartz (1952) con un cromosoma en anillo derivado del 6 de maíz en heterocigosis, en el que analiza los quiasmas en el brazo largo (en el brazo corto tiene el NOR) (Fig. 6.11).

	SIN SOBRECruzAMIENTOS	1 SOBRECruzAMIENTO	DOS SOBRECruzAMIENTOS			
			RECíPROCOS	COMPLEMENTARIOS	DIAGONALES I	DIAGONALES II
MEIÓTICA						
ANAFASE I						
ANAFASE II						

La pregunta del inicio del trabajo fue: ¿Evita Interferencia cromática? (el hecho de que una cromátida intervenga en un sobrecruzamiento dificulta que intervenga en otro (interferencia positiva), favorece que intervenga en otro (interferencia negativa) o la participación de cromátidas en los sobrecruzamientos es al azar). Si no hay interferencia las 4 clases de dobles sobrecruzamientos tendrán la misma frecuencia.

Los resultados observados en las distintas clases separados fueron:

anáfase I SIN PUENTES 0 sob. + 2 sob. rec. 20%
 anáfase I 1 PUENTE 1 sob. + 2 sob. dia I + 2 sob. dia II 59%
 anáfase I 2 PUENTES 2 sob. com. 13%

anáfase II SIN PUENTES 0 sob. + 1 sob. + 2 rec. + 2 com. + 2 dia I 56%
 anáfase II 1 PUENTE 2 sob. dia II 36%

Además se observan:

anáfase II 2 PUENTES 10%

De la comparación entre los puentes dobles en anáfase I y los sencillos en anáfase II parece desprenderse que hay interferencia negativa de cromátidas (es más probable que una cromátida repita en los sobrecruzamientos (diagonal II) (35%) y menos probable que no repita (complementarios) (5%)).

Pero si esto es cierto y existe interferencia de cromátidas entonces los recíprocos (sin puentes en anáfase I) tendrían que ser más frecuentes que los puentes sencillos en anáfase II , máxime cuando en los sin puentes se incluye los casos sin sobrecruzamiento, y sin embargo son el 20%.

Esto unido a la existencia de puentes dobles en anáfase II lleva a postular la existencia de sobrecruzamientos meióticos entre cromátidas hermanas (Fig. 6.12).

(El 35% de los puentes sencillos en anáfase II lo compondrán los diagonales II y los casos de un sobrecruzamiento entre cromátidas hermanas del anillo más otro sobrecruzamiento entre homólogos).

Considerando esta hipótesis de trabajo se pueden explicar todos los resultados sin interferencia cromatídica y sin que exista ninguna objeción.

Con la intención de estudiar la posibilidad de existencia de interferencia cromatídica se demuestra la existencia de sobrecruzamientos entre cromátidas hermanas.

EJEMPLO DE UN ANILLO (Detectado en el Servicio de Genética del Hospital Central de Asturias)

Se describe el caso de un paciente normal al nacimiento y con problemas de pigmentación en extremidades a los 18 meses. En su cariotipo se detectó un cromosoma 19 en anillo en el que no se apreciaba pérdida de bandas.

En principio se concluye que el anillo se formó por pérdida de los extremos sin arrastrar información genética de importancia.

Para tratar de determinar la pérdida submicroscópica que se produjo en la formación del anillo se extrae DNA de linfocitos y se hibrida con clones de sondas de fragmentos de DNA del cromosoma 19 (se cubre con estas sondas todo el cromosoma hasta las regiones subtelo méricas inclusive).

Los niveles de hibridación (cantidad de sonda hibridada) serán aproximadamente 1/2 para los fragmentos que faltan en el homólogo en anillo. Sorprendentemente no se detectó nivel bajo alguno por lo que se concluye que las deleciones terminales del cromosoma que circulariza no incluyen ni las regiones subtelo méricas.

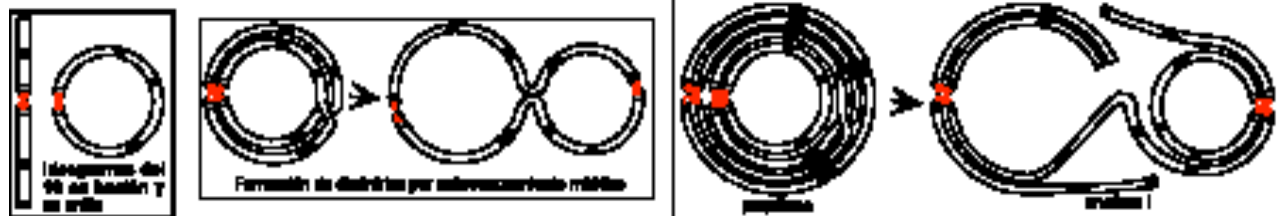
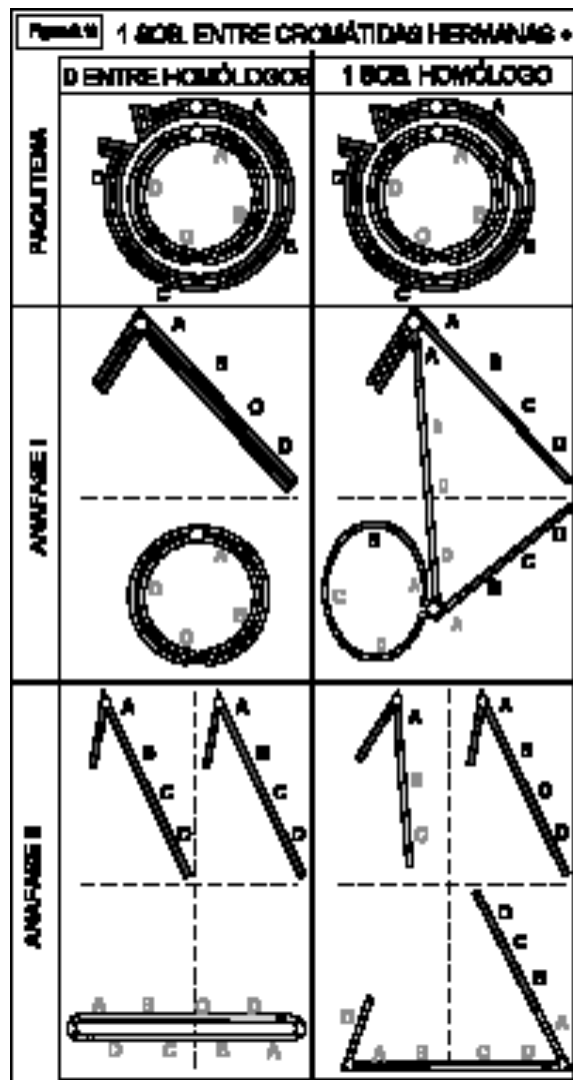
A continuación por cariotipado de los padres se concluye que se trata de una anomalía estructural producida "de novo".

Como un cromosoma en anillo, al igual que cualquier otro cromosoma, durante las mitosis del desarrollo embrionario puede sufrir intercambios entre cromátidas hermanas que tendrían como consecuencia normalmente dicéntricos inestables, en condiciones normales se esperaría que los nuevos cromosomas en anillo llevaran deleciones y/o duplicaciones con lo que el portador debería mostrar algún tipo de síndrome inespecífico (las deleciones y/o duplicaciones se esperan distintas en las diferentes células con sobrecruzamiento entre cromátidas hermanas). Sin embargo en este caso el fenotipo es normal. Para explicarlo deben buscarse mecanismos que impidan las células desequilibradas, bien porque eviten que se produzcan, bien porque eliminen las células implicadas. En todo caso deben ser procesos sistemáticos, que ocurran siempre.

Con ánimo especulativo podría pensarse que las regiones subtelo méricas son más frágiles que el resto del cromosoma y el dicéntrico, cuando se forma, se escinde siempre por el mismo sitio produciendo células equilibradas.

Como otra especulación podría pensarse que el pequeño tamaño y el plegamiento sobre sí mismo del cromosoma dificulta hasta impedir de modo sistemático la coorientación anfitética de los centrómeros de las cromátidas por lo que se formarán células $2n+19$ y otras $2n-19$ en ambos casos inviables, que serían sustituidas por otras en el desarrollo embrionario.

Especial interés tiene en este caso el análisis de la meiosis por la posibilidad de formación de gametos descompensados. A los datos ya conocidos debe añadirse que el bivalente 19, metacéntrico pequeño, probablemente tiene en la inmensa mayoría de las meiosis un solo sobrecruzamiento.



Problemas nº 2, 4 y 5.

DUPLICACIÓN:

Bridges en 1919 definió más o menos la duplicación como un cambio cromosómico estructural que produce la duplicación o repetición de una sección del genoma de los procariotas o eucariotas. Es en resumen una ganancia de un segmento cromosómico.

CLASIFICACIÓN:

Para definir las duplicaciones se tiene en cuenta en primer lugar la posición relativa de los segmentos repetidos entre sí (el original y la copia).

La primera clasificación distingue entre duplicaciones en tándem y duplicaciones desplazadas.

Una duplicación EN TÁNDEM es aquella en la que el segmento repetido se coloca adyacente con el segmento del que se originó. Dentro de ellas hay dos tipos EN TÁNDEM DIRECTO en las que el segmento duplicado conserva el mismo orden de los genes que el segmento original, EN TÁNDEM INVERSO cuando en el segmento duplicado los genes presentan en su orden una imagen especular del segmento original.



En cuanto a las duplicaciones desplazadas, debe hacerse referencia a otros puntos de los cromosomas, empezando por el centrómero:

DESPLAZADA HOMOBRAQUIAL: La duplicación, separada del segmento original, está en el mismo brazo que éste.

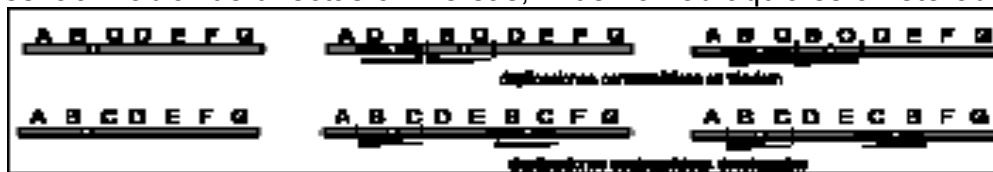


DESPLAZADA HETEROBRAQUIAL: La duplicación, separada del segmento original, está en el otro brazo cromosómico.



Ser directa o inversa depende del orden de los genes de la duplicación y del segmento original respecto al centrómero; si están colocados en el mismo orden respecto al centrómero la duplicación es directa, si están en otro orden respecto al centrómero la duplicación es inversa.

En la práctica se han encontrado algunos tipos de duplicaciones que resultan difícilmente clasificables en los tipos anteriores. En primer lugar están las que duplican un segmento que incluye al centrómero, son las DUPLICACIONES CENTROMÉRICAS y las hay en tándem y desplazadas. En algunos de estos casos no es fácil hablar de directas o inversas, ni de homobraquiales o heterobraquiales.



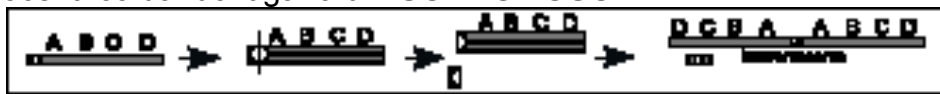
Otros casos de duplicaciones no pueden incluirse dentro de las anomalías que afectan a un solo cromosoma; son los casos en que el segmento duplicado se encuentra localizado en otro cromosoma diferente (no homólogo) del segmento original. Estas duplicaciones son denominadas por algunos autores como "transposiciones" si bien en la mayoría de los textos se les llama duplicaciones inter cromosómicas y se reserva el término transposición para el caso de translocación no recíproca o para el cambio de posición de un segmento dentro del mismo cromosoma.



También deben considerarse los casos en que se duplica un segmento que incluye el centrómero y se independiza constituyendo un cromosoma anular si no duplicó telómeros o un nuevo cromosoma si hay telomerización.



Por último no deben olvidarse los casos de duplicación por misdivisión de un acrocéntrico dando lugar a un **ISOCROMOSOMA**.



En este proceso de misdivisión (división transversal del centómero) se puede formar un cromosoma espejular y por tanto con la información del brazo largo duplicada, que será estrictamente metacéntrico y normalmente el hemicentrómero con el brazo corto se pierde rápidamente. (También se puede explicar por duplicación centromérica de un telocéntrico que da lugar a un dicéntrico).

EFFECTOS GENÉTICOS:

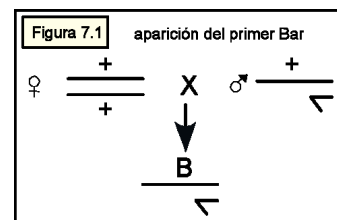
Así como las deleciones producen efectos drásticos y en muchos casos deletéreos para los portadores, las duplicaciones pasan más desapercibidas, se soportan mucho mejor en todos los organismos, son más estables y tienen más posibilidades a nivel evolutivo.

Sin embargo en algunas ocasiones pueden producir distorsiones en los análisis genéticos formales e incluso a veces presentan herencia de tipo poligénico.

Como ejemplo del comportamiento genético de las duplicaciones tradicionalmente se presenta el caso de "Bar".

El gen Bar fue descrito como mutante de *Drosophila melanogaster* por Tice en 1914 como productor de fenotipo con ojo estrecho y alargado, ligado al sexo y dominante, y localizado genéticamente en el punto 57.0 del cromosoma X (Fig. 7.1).

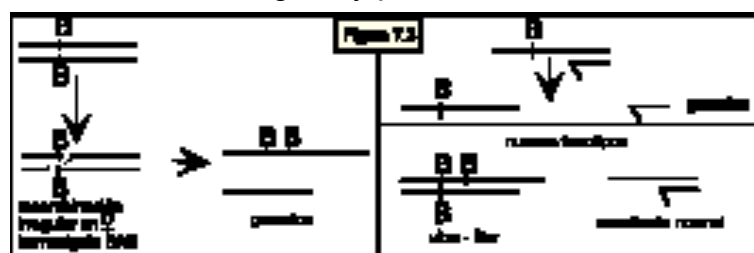
Se describe además que el mutante apareció como descendiente de padres normales y, a partir de este individuo se consiguió una cepa mutante y no segregante (Fig. 7.2).



En 1917 May describe la aparición de los primeros revertientes a normales y en 1920 Zelany cuantifica la frecuencia de reversión desde "Bar" a normal estableciendo que 1 de cada 1600 es revertiente, pero además describe que hay otros segregantes que tienen el ojo todavía más reducido que los mutantes Bar.

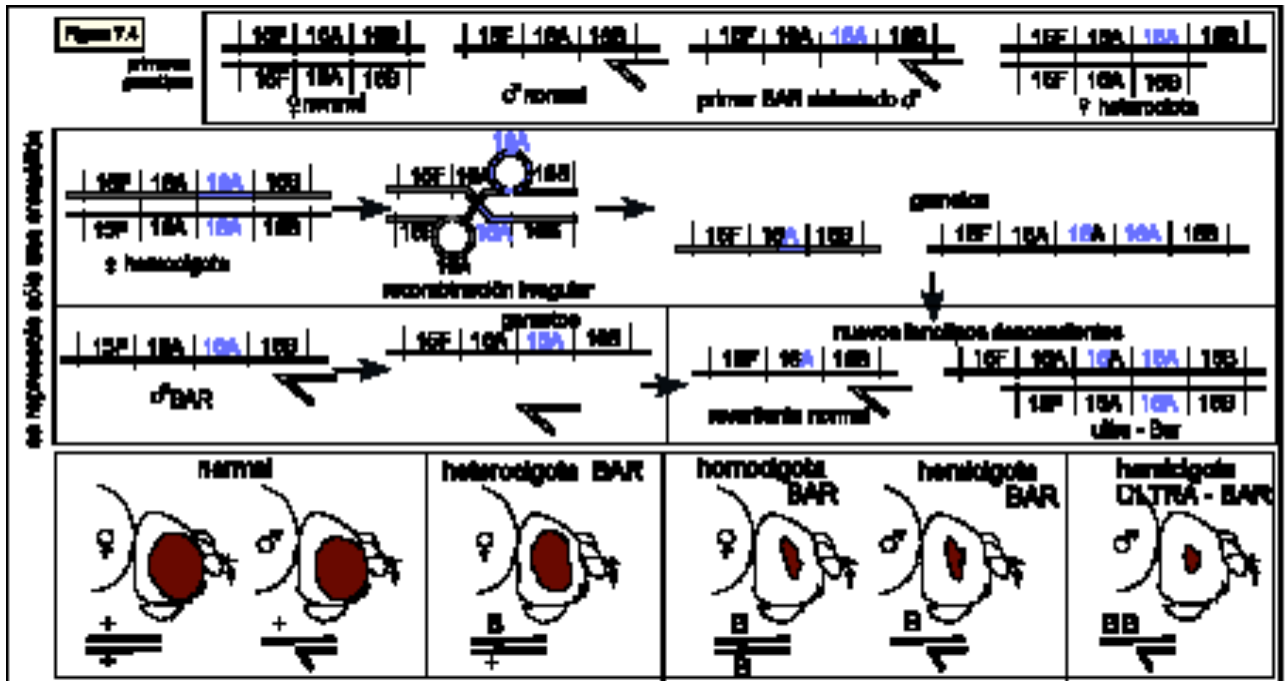
A este mutante con mayor reducción del número de facetas lo denominó ULTRA - BAR.

Tres años más tarde Sturtevant y Morgan y luego Sturtevant en 1925, abordan el tema y para explicar por una parte la alta frecuencia de revertientes, sin duda superior a cualquier tasa de mutación razonable y por otra pero paralelamente la aparición de mutaciones potenciadas en su fenotipo anómalo (ultrabar), proponen que ultra - Bar es una duplicación y los revertientes una deleción del gen Bar pero que se producen por recombinación irregular y por tanto con frecuencias muy altas (Fig. 7.3).

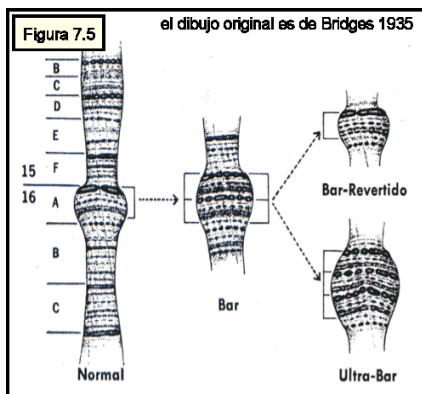


En la actualidad es difícil explicar que una deleción de una mutación que no es una duplicación produzca una reversión a fenotipo normal

En 1935 y después de la puesta a punto de la técnica de cromosomas politénicos, Bridges retoma el problema y citológicamente determina que asociado al fenotipo Bar se encuentra sistemáticamente la duplicación del segmento de cromosomas politénicos 16A. Así los resultados obtenidos por los diferentes autores podrían explicarse de la siguiente forma (Fig. 7.4).



“Bar”, asociado con la duplicación del segmento 16A (concretamente con 3 bandas sencillas y 2 dobles) (Fig. 7.5), lo que produce es un retraso del primordio del ojo durante la división celular. Al aumentar las dosis de Bar aumenta el retraso y disminuye el número de facetas que constituyen el ojo.



En este sentido Sturtevant en 1925 contabilizó el número medio de facetas que tenían las ♀ con distintas constituciones cromosómicas (Fig. 7.6):

Figura 7.6	CONSTITUCIÓN CROMOSÓMICA	GENOTIPO	Nº MEDIO FACETAS
		normal	775
		heterocigota BAR	365
		homocigota BAR	68
		heterocigota ULTRA - BAR	45
		homocigota ULTRA - BAR	25

Llama la atención que las homocigotas Bar y las heterocigotas ultra - Bar, que tienen el mismo número de dosis del segmento 16A (4), no presentan el mismo número de facetas (68 y 45 respectivamente).

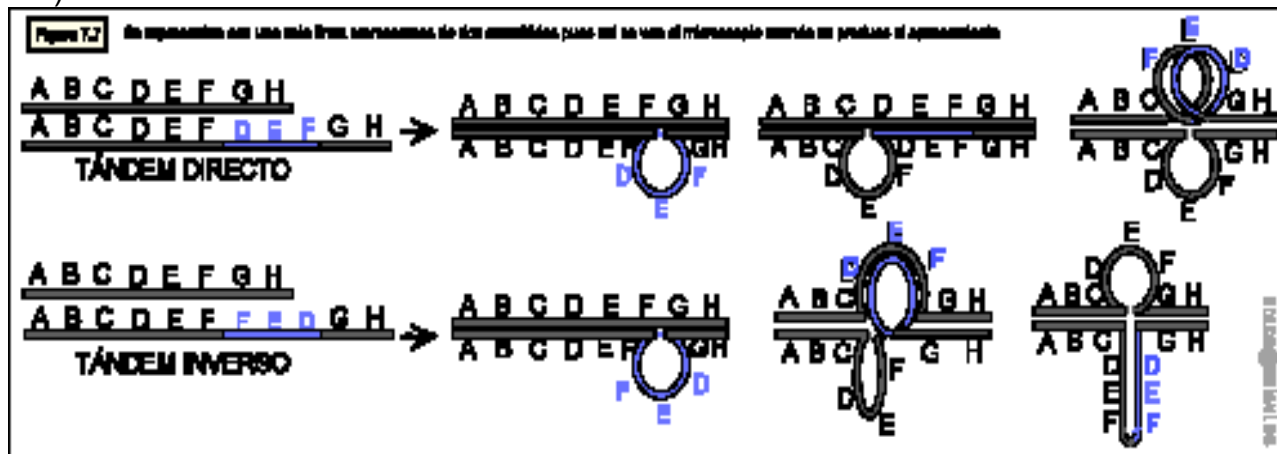
A este fenómeno se le llamó “efecto de posición estable” (en contraposición con el efecto de posición variegado). Este efecto también llamado “cis - trans” implica que cuando dos segmentos extra están en el mismo cromosoma tienen un efecto mayor que cuando están en distinto cromosoma,

relacionándose esto con la inestabilidad que se produce cuando hay más de un segmento cromosómico duplicado por cromosoma.

MITOSIS: Al igual que ocurre en otras anomalías estructurales, las mitosis de portadores de duplicaciones no suelen tener problemas por lo que el desarrollo embrionario no se ve alterado por el comportamiento cromosómico.

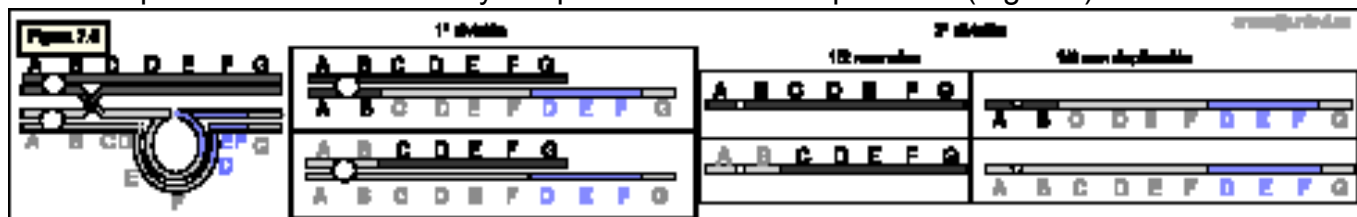
MEIOSIS: La tendencia de los cromosomas homólogos a aparear en la mayor longitud posible determina que durante la zigotena se formen figuras espaciales complejas en los individuos portadores de duplicaciones, con la consiguiente formación de sobrecruzamientos irregulares y gametos anómalos (como se ha visto en Bar la recombinación irregular produce alteración del número de dosis, pudiendo éstas multiplicarse o reducirse). Por otra parte las repeticiones de fragmentos permiten que aún con la intervención de unos mismos cromosomas no siempre los apareamientos sean iguales por lo que prever sus consecuencias es mucho más complicado que en los estudios de otras anomalías cromosómicas. Además del número de dosis es importante la homocigosis en que se encuentren y su longitud. La variabilidad en el comportamiento puede ser muy grande por lo que nos limitaremos a ver algunos ejemplos.

En las duplicaciones en tándem los apareamientos más frecuentes son (fig. 7.7):



Para analizar los sobrecruzamientos deben representarse las dos cromátidas en cada cromosoma y considerar la posibilidad de recombinación entre cromátidas hermanas.

En un heterocigoto para una duplicación en tándem directo lo normal es un apareamiento de los cromosomas homólogos con un bucle del tamaño de la duplicación que no tiene que ser forzosamente coincidente con ésta. Los sobrecruzamientos, no importa donde se den, no alteran la formación de gametos que siempre serán 1/2 normales y 1/2 portadores de la duplicación (Fig. 7.8).

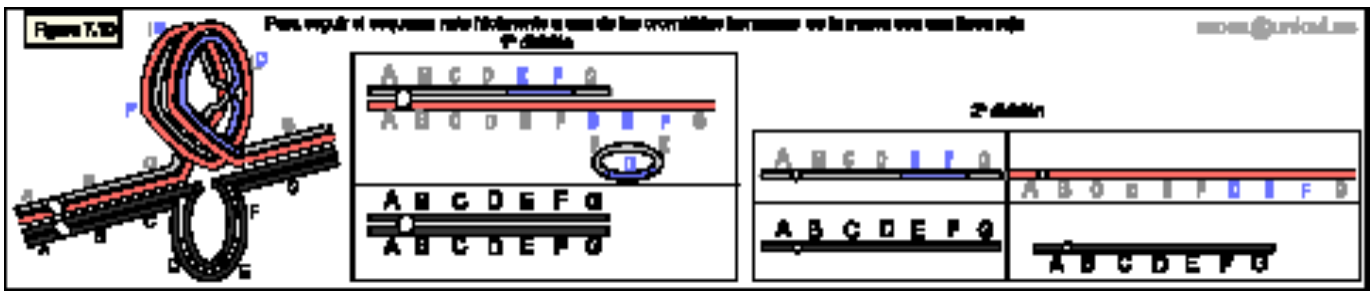


Cuando el apareamiento no es completo y se complica como se indica en el esquema siguiente, los sobrecruzamientos pueden producirse en la zona duplicada entre cromátidas hermanas o en la misma cromátida Fig. 7.9).



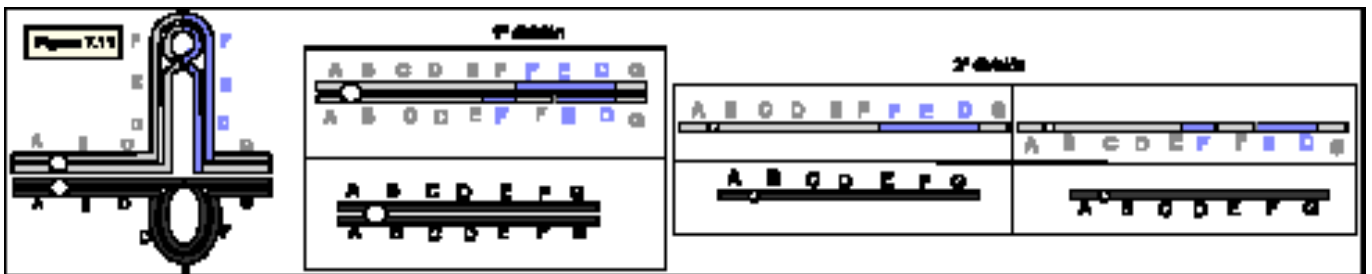
El sobrecruzamiento entre cromátidas hermanas tiene como consecuencia la aparición de un revertiente y una cromátida en la que se repite la duplicación. Si se recuerda el comportamiento de la duplicación Bar se podría explicar la aparición de ultra - Bar y de los revertientes mediante un modelo como éste a partir de un heterocigoto.

Cuando el sobrecruzamiento se produce entre dos zonas de la misma cromátida se forma un anillo del tamaño de la duplicación que se pierde. Los gametos que se forman serán 3/4 normales, 1/4 portadores de la duplicación (Fig. 7.10). Los sobrecruzamientos entre homólogos no producen desequilibrio nuevo.

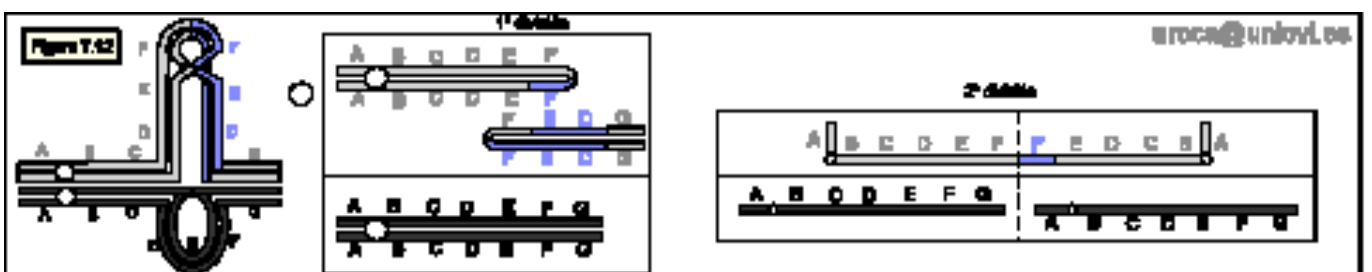


En las duplicaciones en tándem inverso, al igual que se ha visto en las directas, si hay un buen apareamiento y sólo el segmento duplicado queda como un bucle sin aparear, sean cuales sean los sobrecruzamientos que se produzcan, se forman 1/2 de gametos normales y 1/2 con la duplicación invertida. Pero además se pueden dar otros apareamientos:

En los apareamientos tipo "fold back" cuando se produce un sobrecruzamiento entre dos segmentos de la misma cromátida los gametos son 1/2 normales y 1/2 con duplicación invertida (Fig. 7.11).

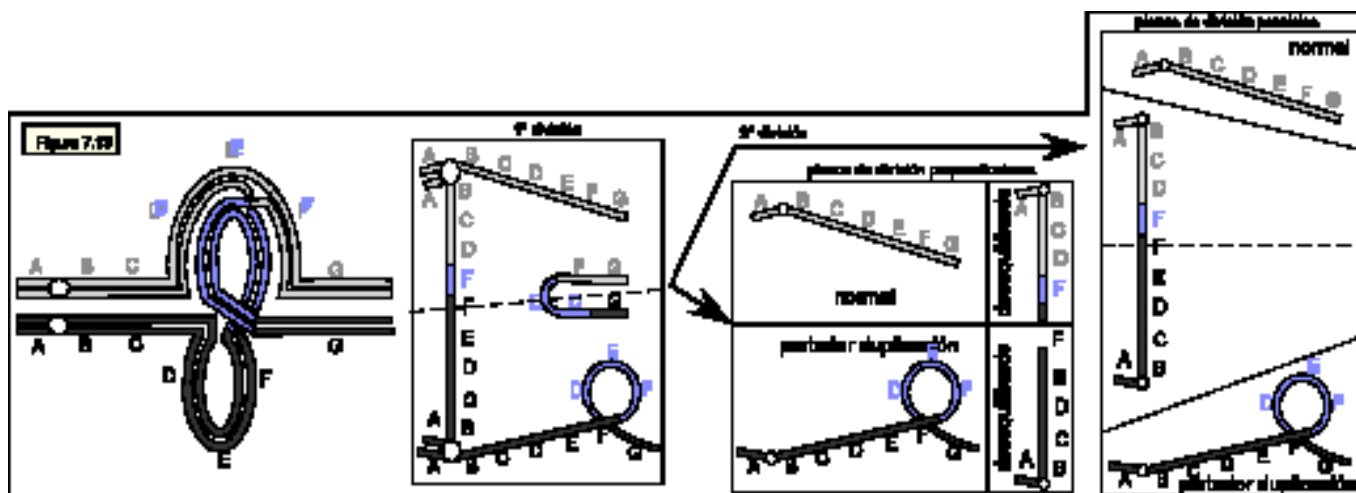


Un sobrecruzamiento en el "fold back" entre cromátidas hermanas produce un dicéntrico y un acéntrico (que se pierde) en anafase I y un dicéntrico en puente en anafase II (Fig. 7.12).



La mitad de los gametos abortarán, son desequilibrados e inestables por ciclos puente - rotura - fusión, y los viables son todos normales.

Siguiendo con las duplicaciones en tándem inverso y en heterocigosis, cuando la región duplicada invertida aparea con el cromosoma normal, un sobrecruzamiento en esta zona provoca un puente en anafase I y pérdida de un fragmento acéntrico (Fig. 7.13).



Si se forman 4 productos meióticos 1/2 serán desequilibrados, 1/4 normales y 1/4 portadores de la duplicación.

Los desequilibrados tendrán un cromosoma sin uno de los telómeros que entrará en las divisiones siguientes en ciclos fusión - puente - rotura, su desequilibrio se irá acentuando y terminarán por perderse.

En las meiosis femeninas el gameto suele formarse en uno de los extremos del conjunto de los meiocitos y si las placas de división son paralelas nunca el meiocito que se diferencia como gameto va a ser portador de cromosomas desequilibrados pues los que intervienen en el puente quedan en una posición central.

Cuando la duplicación se encuentra en homocigosis el apareamiento puede ser continuo a lo largo de todo el par de homólogos y si se forman bucles los sobrecruzamientos pueden producir revertientes y multiplicación de la duplicación tal como se ha visto en el ejemplo Bar.

IDENTIFICACIÓN:

En mitosis puede detectarse una duplicación, tanto en homocigosis como en heterocigosis si se modifica sensiblemente el tamaño del cromosoma o cuando se vean alterados los patrones de bandas.

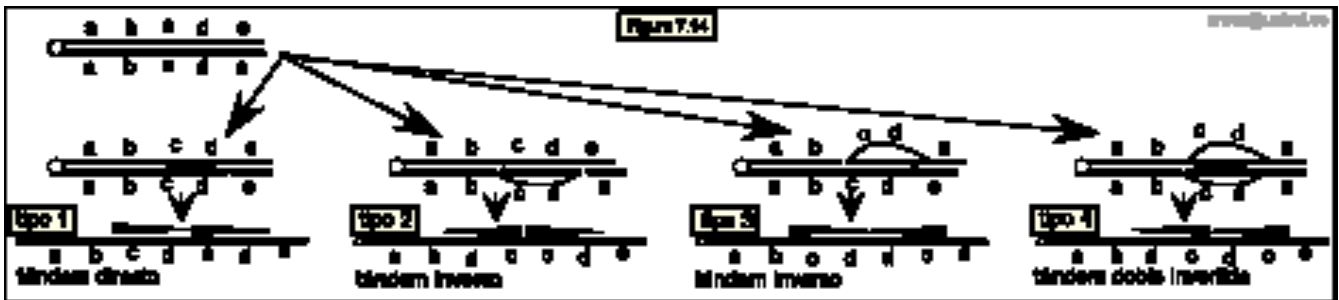
En cromosomas politénicos, siempre que el organismo los presente, la identificación resulta fácil normalmente pues se conjuga la existencia de apareamiento entre cromosomas homólogos que pone de manifiesto cualquier irregularidad con los detallados patrones de bandas que permiten identificar segmentos concretos tanto en hetero como en homocigosis.

En las primeras etapas de la meiosis ya sea por la secuencia de cromómeros ya por el apareamiento de homólogos, son identificables las duplicaciones. Conforme se van espiralizando los cromosomas cuanto menor es la duplicación resulta más difícil identificarlas.

No debe olvidarse que las consecuencias genéticas de las duplicaciones pueden permitir su identificación. En los heterocigotos los problemas de apareamiento producen una bajada en la frecuencia de sobrecruzamientos que se reflejará en las frecuencias de recombinantes. Los homocigotos tienen un comportamiento diferente ya que su apareamiento tiende a normalizarse y al ser los cromosomas más largos las distancias genéticas entre los genes serán mayores que en los individuos normales.

FORMACIÓN DE LAS DUPLICACIONES.

La producción artificial de duplicaciones fue estudiada detenidamente en *D. melanogaster* por Slizynska en 1957 y 1963. Partiendo de cromosomas con dos cromátidas (replicados) se pueden producir 4 tipos de roturas y reuniones (Fig. 7.14).



Los datos obtenidos fueron: tipo 1: 29; tipo 2: 9; tipo 3: 4; tipo 4: 1.

En la naturaleza deben producirse duplicaciones como éstas pero no pueden descartarse otros modelos como los ocurridos durante la replicación, por tartamudeo de las polimerasas (después se hablará de las repeticiones de tripletes) o cambiando de hebra y volviendo hacia atrás.

Por último debe indicarse que también se pueden generar duplicaciones a partir de otras anomalías estructurales como se verá en su momento.

IMPORTANCIA EVOLUTIVA DE LAS DUPLICACIONES:

Aunque suponen una carga genética extra y producen desequilibrios, las duplicaciones son sin duda un fenómeno evolutivo de primer orden como se pone de manifiesto por la gran cantidad de ellas que se encuentran en la naturaleza. Como ejemplos basta citar algunas de las familias génicas fijadas en mamíferos (v.g. las hemoglobinas) que sin duda provienen de una única secuencia original.

Las duplicaciones permiten el mantenimiento de más variabilidad sin resultar letal e incluso sostener la variabilidad sin que la información original segregue.

En otros casos las duplicaciones generan directamente nuevas variantes alélicas por recombinación irregular ilegítima. Algunos ejemplos están ampliamente documentados como el caso de las haptoglobinas que son proteínas sintetizadas en el hígado cuya función es unirse fuertemente a la hemoglobina formando complejos solubles que no precipitan. Por electroforesis de almidón, en la que se separan las proteínas por su tamaño, se detectaron 3 tipos de individuos con haptoglobinas diferentes,

Se pensó que los genes que controlan la formación de estas proteínas se llamaron **Hp1** y **Hp2** y en Europa sus frecuencias génicas debían ser 0.4 y 0.6 respectivamente.

Hp 1-1 Con una frecuencia en poblaciones europeas del 16%
Hp 1-2 Con una frecuencia del 48%
Hp 2-2 Con una frecuencia del 36%

A los 3 fenotipos se correspondían los genotipos:

Hp¹ Hp¹ [Hp 1-1]; Hp¹ Hp² [Hp 1-2]; Hp² Hp² [Hp 2-2]

Del análisis bioquímico de las haptoglobinas se desprende que cada una en realidad es un dímero, está formada por dos cadenas polipeptídicas llamadas α y β . Todas las haptoglobinas tienen una cadena β idéntica (sin variabilidad). Sin embargo en las cadenas α hay 2 tipos diferentes, 1α y 2α . La 1α tiene un peso molecular de aproximadamente 9000 mientras que la 2α tiene un peso molecular de 12000.

Analizando estas variantes electroforéticamente (corren en un gel más o menos dependiendo de su carga eléctrica, no se encuentra variabilidad ni en β ni en 2α pero sí hay dos variantes en 1α ; $1F\alpha$ que durante la electroforesis se desplaza más en el gel (rápida) y $1S\alpha$ que se desplaza menos (lenta). Sin tener en cuenta la cadena β pues no tiene variabilidad, los genotipos para las haptoglobinas serían:

[Hp 1-1]- Hp^{1F} Hp^{1F}, Hp^{1F} Hp^{1S}, Hp^{1S} Hp^{1S}, [Hp 1-2]-; Hp^{1F} Hp², Hp^{1S} Hp², [Hp 2-2]- Hp² Hp²

FENOTIPO	[Hp 1-1]			[Hp 1-2]		[Hp 2-2]
GENOTIPO	Hp ^{1F} Hp ^{1F}	Hp ^{1F} Hp ^{1S}	Hp ^{1S} Hp ^{1S}	Hp ^{1F} Hp ²	Hp ^{1S} Hp ²	Hp ² Hp ²
POLIPÉPTIDO α	F	FyS	S	FyZ	SyZ	Z
POLIPÉPTIDO β	EN VARIABILIDAD					

Al analizar las secuencias aminoacídicas de los polipéptidos a se encuentra:

1αF tiene 83 aminoácidos con glutámico en la posición 54 (a 29 del final)

1αS tiene 83 aminoácidos con lisina en la posición 54 (a 29 del final); 2α tiene 142 aminoácidos con glutámico en la posición 54 y lisina en la 113 (a 29 del final). Tal parece que 2α es una duplicación no completa de 1αF y 1αS (Fig. 7.15).



Por las secuencias aminoacídicas se puede interpretar que el alelo Hp2 se formó por recombinación desigual en un individuo heterocigoto Hp1F Hp1S.

Como se ve la diversidad se genera en un caso por mutación (glutámico - lisina) y en otro por duplicación (de 1α a 2α) aunque es una duplicación incompleta.

EJEMPLO DE UNA DUPLICACIÓN DESPLAZADA (Detectada en el servicio de Genética del Hospital Central De Asturias).

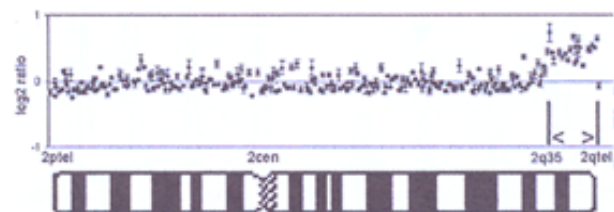
En el cariotipo de un paciente con un síndrome inespecífico en principio, se detectó un aumento de material en el extremo del brazo corto del cromosoma 2.



Al hacer una hibridación con fragmentos de DNA clonados se identifica duplicación del segmento 2q35-37 sin

pérdida de fragmentos distales. (Esta duplicación resulta congruente con las características fenotípicas del paciente y con las referencias bibliográficas).

Si los padres presentan cariotipo normal, la formación de la duplicación podría explicarse por recombinación irregular entre cromátidas hermanas en mitosis premeiótica de alguno de los padres, con puntos de intercambio p25.3 y q35. El paciente si no tiene alterada su fertilidad, formará 1/2 de gametos con cromosoma 2 normal y 1/2 portadores de la duplicación sea cual sea el apareamiento de los segmentos en triple dosis y los sobrecruzamientos que allí se produzcan sin importar que intervengan cromátidas hermanas, homólogas o una sola cromátida.



(Como se verá en su momento es posible explicar la formación de la duplicación si uno de los padres es portador de una inversión con los mismos puntos de rotura y reunión).

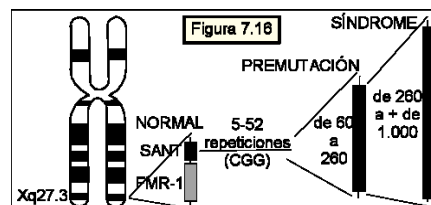
A medio camino entre las mutaciones puntuales y las cromosómicas se encuentran las “**expansiones de repeticiones de trinucleótidos**” que dan lugar a síndromes como la corea de Huntington o el X-frágil.

La historia común de todas ellas es que en un punto de un cromosoma, codificante (corea) o no codificante (X-frágil), existe en los individuos normales un triplete repetido un número moderado de veces. En algún momento de la vida del individuo normal y en células de la línea germinal, los tripletes se multiplican anormalmente por lo que el descendiente formado a partir de ese gameto desarrolla la patología correspondiente.

No se trata de una multiplicación por recombinaciones tras apareamientos irregulares, parece más bien que es un problema de la polimerasa sobre las secuencias repetidas (se le llamó deslizamiento), pero hay más cosas alrededor que hacen de cada síndrome un fenómeno específico.

Síndrome de X-frágil (Fig. 7.16):

En la región q27.3 del cromosoma X se encuentra el gen FMR-1 que codifica para un complejo de proteínas relacionadas con la transcripción. Justamente antes del primer exón de FMR-1 se encuentra una secuencia denominada SANT (Secuencia Anterior No Traducida) constituida por el triplete CGG repetido entre 5 y 52 veces en los individuos normales.



Los problemas comienzan cuando la zona SANT sufre lo que se conoce con el nombre de “premutación” y multiplica el número de tripletes pasando de entre 5 y 52 a tener entre 60 y 260.

El individuo con un cromosoma X premutado tiene un fenotipo normal sea hombre o mujer pero en la formación de gametos no se comportan de la misma manera.

Si el portador de la premutación es un hombre en su gametogénesis no se produce multiplicación de secuencias por lo que sus hijas (sus hijos no reciben el X de él) tendrán un cromosoma X con el mismo número de tripletes que su padre.

Si el portador de la premutación es una mujer resulta que los óvulos con premutación tienen un patrón de metilación (imprinting) tal que en la zona de SANT se produce “deslizamiento” multiplicándose los tripletes hasta niveles patológicos (más de 260).

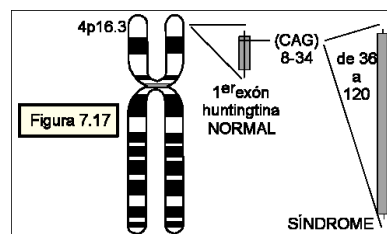
En resumen, si un varón tiene la premutación es de fenotipo normal y en la formación de los espermatozoides el patrón de metilación del cromosoma X es tal que impide el deslizamiento. Sus hijas reciben el cromosoma X del padre con el mismo número de tripletes en SANT de su padre y serán de fenotipo normal igual que él, pero en la ovogénesis el cromosoma X premutado sufre deslizamiento y los óvulos serán 1/2 portadores de un X con más de 260 tripletes repetidos y 1/2 llevarán el otro cromosoma X que se supone normal.

El siguiente paso es explicar qué pasa con los individuos portadores de un cromosoma X con más de 260 tripletes CGG en la zona SANT de FMR-1, es decir, en qué consiste el síndrome X-frágil.

Cuando se alcanzan niveles de multiplicación patológicos (más de 260) la región SANT se metila en las citosinas de los tripletes y esta metilación se extiende a las islas CpG del regulador de FMR-1 por lo que este gen deja de transcribirse y esto acaba por producir retraso mental, etc. Esto ocurre en los hombres (sólo tienen un cromosoma X) pero las mujeres presentan síntomas más atenuados ya que por la inactivación al azar de los cromosomas X resulta un mosaico con al menos 1/2 de células normales.

Por último es especialmente interesante que los cromosomas X, igual en hombres que en mujeres, cuando tienen más de 260 tripletes CGG en SANT alteran su estructura en Xq27.3 de tal manera que al cultivarlos en medios pobres en ácido fólico se rompen sistemáticamente por Xq27.3. Por esta fragilidad encontrada en el cariotipo de individuos con retraso mental empezó a estudiarse todo esto y de ahí el nombre del síndrome.

En el caso de la **enfermedad de Huntington**, (Fig. 7.17) (degeneración nerviosa que es dominante y se manifiesta tardíamente), el cromosoma implicado es el 4, el triplete es CAG y es parte del primer exón de la huntingtina (codificante) que se encuentra en 4p16.3.



En un individuo normal el gen de la huntingtina tiene en su principio, justamente después del triplete de iniciación entre 8 y 35 tripletes CAG por lo que la proteína resulta polimórfica para glutamina en el extremo NH₂. A partir de esta situación puede producirse la elongación del número de tripletes, entre 36 y 120, que resulta patológica.

La huntingtina es una proteína funcionante en las terminaciones nerviosas y la mutación es dominante pues no pierde su función sino que se modifica haciendo que las células neuronales espinosas medias con el paso del tiempo se alteran y mueren “mientras más tripletes CAG hay, más precozmente se manifiesta la enfermedad”. Por otro lado se sabe que la expansión de tripletes en este caso se produce en los espermatozoides, no en las meiosis femeninas (debe tratarse también de un fenómeno de imprinting). Transmitida a través de la madre se espera que la enfermedad se manifieste aproximadamente a la misma edad en los hijos que la hereden pero si es a través del padre los hijos que la hereden tendrán muy probablemente ampliado en número de tripletes por lo que manifestarán la enfermedad más precozmente. Este fenómeno se conoce con el nombre de “**anticipación**”.

DUPLICACIONES PEQUEÑAS CON EFECTOS FENOTÍPICOS EN EL HOMBRE.

La atrofia muscular peronia, también conocida con el nombre de “Charcot-Marie-Tooth” es una enfermedad corriente con frecuencia de 1 de cada 2500 nacidos vivos.

La pervivencia de los afectados permitió su estudio genético y su localización en 17p11.2-p12.

Desde 1993 se ha detectado una relación directa con la duplicación en uno de los cromosomas 17 de una duplicación de 1.5Mb., que por su tamaño no modifica la morfología del cromosoma ni su patrón de banda pero que se puede poner de manifiesto con otras técnicas como la hibridación “in situ” con fluorescencia (FISH).

La formación de la duplicación (aparición “de novo”) parece que está relacionada con la existencia en el cromosoma 17 normal de una secuencia de 24 Kb. repetida y separadas entre sí por 1.5 Mb. Se le ha llamado CMT1A-REP.

Lo que se ha podido detectar es que en el cromosoma 17 normal existen las dos secuencias repetidas con 1.5 Mb. entre ellas y cuando aparece la duplicación de 1.5 Mb. está situada en tándem directo y en su nuevo extremo hay otra secuencia de 24Kb. (en total 3).

Se piensa que se puede formar la duplicación por recombinación regular ilegítima durante la meiosis.

La duplicación se encontró también en homocigosis lo cual da una idea de la alta frecuencia con que está en las poblaciones.

