

UN MATEIX CAMÍ AMB DRECKERES DIFERENTS EN FUNCIÓ DEL SEXE: GAMETOGÈNESI FEMENINA

RAQUEL GARCIA-CRUZ,¹ IGNASI ROIG² I MONTSERRAT GARCIA¹

¹ *Unitat de Biologia Cel·lular i Genètica Mèdica, Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, Facultat de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona.*

² *Molecular Biology Program, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center.*

Adreça per a la correspondència: Montserrat Garcia Caldés. Unitat de Biologia Cel·lular i Genètica Mèdica, Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, Facultat de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona. Campus de Bellaterra. 08193 Bellaterra. Adreça electrònica: montserrat.garcia.caldes@uab.es.

RESUM

En humans, les aneuploidies s'originen principalment a causa d'errors en la gametogènesi femenina. Aquest fenomen fa de l'oogènesi un tema d'estudi atractiu, tot i que per la dificultat que comporta l'obtenció de mostres no existeixen molts estudis al respecte. En aquest treball, es resumeix l'estat actual del problema, i es para especial atenció a les diferències existents entre la gametogènesi masculina i femenina que puguin explicar l'origen d'aquest important problema per a la societat actual.

Paraules clau: aneuploidia, meiosi, oogènesi, recombinació, sinapsi.

A SAME ROUTE WITH DIFFERENT PATHS DEPENDING ON THE SEX: FEMALE GAMETOGENESIS

SUMMARY

In humans, aneuploidy is mainly originated by errors produced during female gametogenesis. This phenomenon makes oogenesis such an attractive research topic, but due to the difficulties involving sample collection, not many studies have been performed in human oocytes. In this paper, a summary of the current knowledge about human female meiosis is provided, specially focusing on the differences between male and female gametogenesis that may explain the origin of such an important topic for Western society.

Key words: aneuploidy, meiosis, oogenesis, recombination, synapsis.

EL PERQUÈ DE TOT PLEGAT

Les alteracions en el nombre de cromosomes d'una cèl·lula es coneixen amb el nom de *aneuploidies cromosòmiques*. La majoria es caracteritzen per presentar un cromosoma de més (trisomies), però també podem trobar un cromosoma de menys (monosomies). Els cromosomes implicats poden ser tant autosomes com cromosomes sexuals.

En l'espècie humana, les aneuploidies cromosòmiques són la causa més freqüent d'avortaments espontanis i de problemes en el desenvolupament psicomotor en nadons. Diferents dades epidemiològiques fan pensar que almenys un 15 % de les concepcions són aneuploides, encara que en nadons la incidència baixa fins a un 0,3 % (vegeu una revisió a Hassold i Hunt, 2001).

Els cromosomes implicats en les aneuploidies varien segons el període de desenvolupament estudiat: en avortaments espontanis els cromosomes implicats amb més freqüència són el 16, el 21, el 22 i l'X; mentre que en nadons ho són el 13 el 18 i el 21, així com els cromosomes sexuals.

L'origen de les aneuploidies no és uniforme. La gran majoria procedeixen d'errors produïts en la gametogènesi, principalment en l'oogènesi. A tall d'exemple, tot i que les freqüències varien en funció del cromosoma implicat, es pot afirmar que més del 80 % dels casos de síndrome de Down (trisomia 21) tenen el seu origen en errors de la gametogènesi femenina.

TOT FENT CAMÍ: GAMETOGÈNESI

S'anomena *gametogènesi* el procés mitjançant el qual els organismes sexuals produeixen els seus gàmetes (vegeu una revisió a Garcia Caldés i Ponsa Arjona, 2005). En aquest procés, la proliferació mitòtica, l'existència d'una divisió cel·lular especial

(meiosi) que permet un repartiment equilibrat del material hereditari al mateix temps que facilita la seva reducció a la meitat, així com la diferenciació i maduració de les cèl·lules germinals, són etapes comunes en ambdós sexes. No obstant això, la seva seqüència, així com la durada de les etapes citades, varien en gran manera en funció del sexe, de manera que les diferències existents condicionen totalment l'enfocament de qualsevol problema reproductiu o d'anàlisi de risc genotòxic. En cap cas, doncs, és possible l'extrapolació mecànica de dades d'un sexe a l'altre (vegeu la taula 1 i la figura 1).

En humans, tant en homes com en dones, la gametogènesi comença molt aviat. Als 20-22 dies de vida embrionària al voltant d'un miler de cèl·lules d'origen endodèrmic (extraembrionari) assentades en la paret del sac vitellí emigren de manera precisa vers les crestes genitals. L'emigració de les cèl·lules germinals primordials té lloc al voltant de la cinquena o sisena setmana de gestació, i està acompanyada de proliferació. Entre la vuitena i la desena setmana de gestació comencen a aparèixer les primeres cèl·lules germinals (oogònies i espermatogònies) en funció del sexe de l'embrió, del desenvolupament gonadal i dels senyals que proporciona l'ambient en el qual es troben les cèl·lules. En el fetus masculí la conversió de les cèl·lules germinals en espermatogònies significarà el final de l'etapa prenatal de l'espermatogènesi. L'espermatogènesi només tindrà continuïtat amb l'arribada de la pubertat i es farà de manera continuada durant tota la vida de l'adult fins a la seva mort (vegeu la taula 1).

Cap a la novena o desena setmana de gestació d'un fetus femení es comencen a observar oogònies aïllades. La proliferació mitòtica d'aquestes permet l'aparició de grups d'oogònies que, de manera totalment asíncrona, al voltant de l'onzena o dotzena

TAULA 1. Diferències més importants entre l'oogènesi i l'espermatogènesi

Espermatogènesi	Oogènesi
Les espermatogònies proliferen a partir de la pubertat	Les oogònies perden la capacitat proliferativa durant el període fetal.
Es genera un nombre il·limitat d'espermatozoides.	Es genera un nombre màxim finit d'oòcits, fixat als 6-7 mesos de vida fetal.
La meiosi s'inicia en arribar a la pubertat.	La meiosi s'inicia durant la vida fetal però no es reprèn fins a la pubertat.
La meiosi és un procés continu.	La meiosi és discontinua: bloqueig en el dictiotè i en la metafase II.
Un espermatòcit I genera quatre espermatozoides.	Un oòcit I genera un únic oòcit II fecundable.
Les divisions cel·lulars són sincròniques, simètriques i incompletes (es formen sincicis).	Les divisions cel·lulars són asíncrones, asimètriques i completes.

setmana de gestació inicien la primera divisió meiótica, i amb això la diferenciació en oòcits I. Serà més endavant, cap a les vint-i-dues setmanes de gestació, que la interacció de l'oòcit I amb les cèl·lules de la pregranulosa donarà lloc als fol·licles primordials. Es tracta de l'inici de la fol·liculogènesi i del bloqueig de la profase meiótica (vegeu la figura 1).

D'un nombre aproximat de sis-centes mil cèl·lules germinals en el segon mes de gestació, es pot arribar a quasi 7×10^6 en el cinquè mes. Aquest nombre ja no serà superat. Els fenòmens d'atrèsia comencen a ser freqüents i la reserva d'oogònies deixa d'existir com a tal a partir del sisè mes de gestació. És per això que totes les gàmetes femenines en la vida adulta provenen necessàriament de la reserva d'oòcits establerta en aquest moment de la vida fetal. En la dona, a diferència del que passa en l'home, i malgrat que actualment el tema és motiu de controvèrsia, es pensa que no existeix una reserva de cèl·lules germinals que pugui ajudar a resoldre qualsevol problemàtica reproductiva conjuntural.

Els fol·licles primordials, endocrinològicament inactius, són reclutats a fol·licles

primaris (uni i multilaminars) i secundaris preantrals. Aquest reclutament, que comporta creixement i diferenciació de les cèl·lules de la granulosa i de l'oòcit, no passa perquè sí. Les múltiples i variades connexions heteròlogues entre cèl·lules de la granulosa entre si i amb l'oòcit I permeten parlar del fol·licle com un tot i anomenar-lo *unitat reproductiva de l'ovari*. Es tracta d'un procés de creixement i de diferenciació sincrònica, continuada i independent de gonadotrofina, que comença abans del naixement, s'accentua en les nenes de manera progressiva a partir dels sis anys d'edat, s'incrementa amb la pubertat, s'alenteix amb l'embaràs i la lactància però no s'atura fins l'esgotament dels fol·licles primordials formats en l'etapa prenatal de l'oogènesi en la menopausa.

La formació de la teca, l'adquisició d'irrigació capil·lar, l'aparició del líquid fol·licular i la reorganització del fol·licle ens porta al fol·licle preovulatori, que sí que és dependent de gonadotrofina. La seva formació quedarà, doncs, lligada a la menarquia.

En els primers dies de cada cicle menstrual es porta a terme una selecció dels fol·licles preovulatoris envers la consecució d'un fol·

lice dominant ovulatori capaç de proporcionar un gàmeta femení fecundable.

El procés de creixement de l'òcit en l'etapa de reclutament és equivalent a una etapa G_2 del cicle mitòtic. Durant els 10-50 anys en els quals aquest fol·licle pot trigar a transformar-se en ovulatori, l'òcit podrà créixer però no madurar. El voluminós nucli amb un nuclèol gran i ben estructurat s'anomena *vesícula germinal*, i s'utilitza com a indicador del seu estat de desenvolupament. Amb la formació dels fol·licles preovulatoris, així com en la selecció del fol·licle ovulatori, s'inicia la maduració, i amb aquesta el trencament de la vesícula germinal, que permetrà acabar la primera divisió meiótica. Serà la unitat de fecundació (òcit II-primer corpuscle polar i cèl·lules del cúmulus) la que

sortirà del fol·licle dominant i iniciarà el camí cap a les trompes de Fallopi en cada cicle menstrual, just després de l'estímul gonadotròfic menstrual (vegeu la figura 1).

L'òcit crescut i madur que inicia la segona divisió meiótica és una cèl·lula que pràcticament ha quadruplicat el seu diàmetre i presenta un volum cent vegades superior al que tenia a l'inici de la seva vida fol·licular. En cas que sigui fecundat, tindrà capacitat per finalitzar la meiosi, així com per dirigir les primeres etapes de l'embriogènesi. Es tracta, doncs, d'una cèl·lula altament diferenciada que, malgrat aquesta gran especialització, manté intacta la totipotencialitat de les cèl·lules germinals primordials de les quals procedeix, a diferència dels espermatozoides (cèl·lules només altament

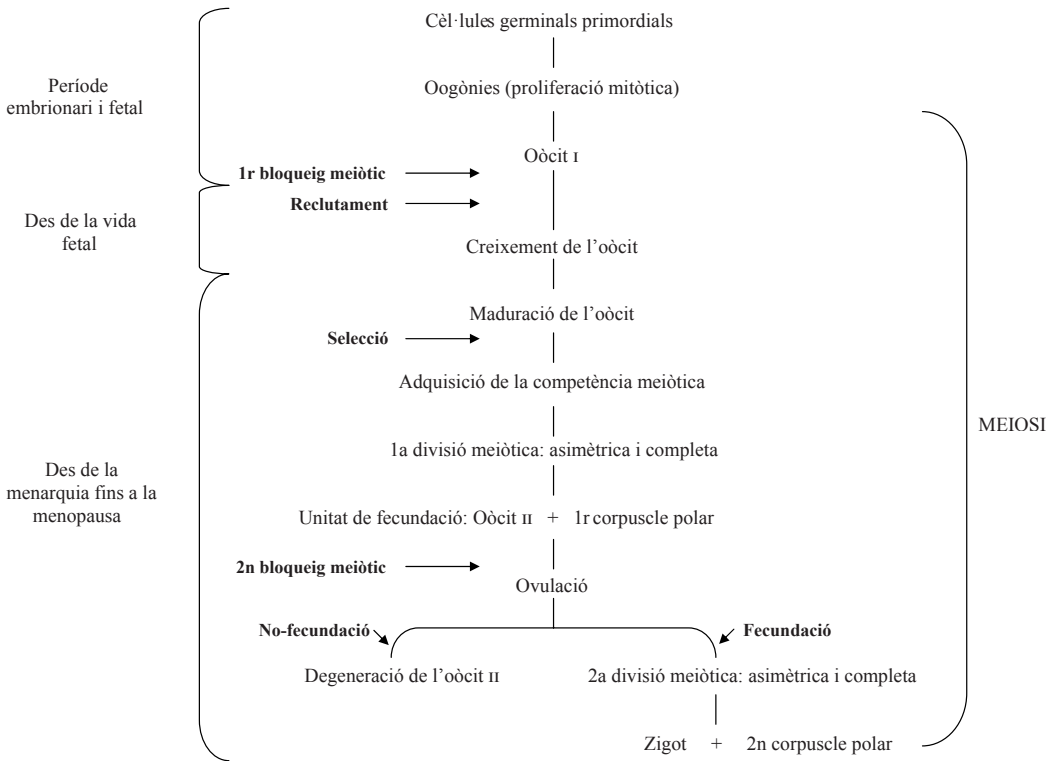


FIGURA 1. Resum de l'oogènesi humana.

especialitzades). Això fa que l'òcit sigui una cèl·lula difícilment catalogable: és capaç de presentar una divisió reduccional i de ser al mateix temps un gàmeta fecundable. En aquest sentit la seva capacitat de direcció i resolució durant les primeres etapes postfecundació, quan l'activitat del genoma embrionari es presenta sota mínims, és absolutament imprescindible per a la correcta resolució del desenvolupament embrionari.

UN CAMÍ AMB REVOLTS: PRIMERA I SEGONA DIVISIÓ MEIÒTICA

Va ser a finals del segle XIX quan es va comprovar l'existència d'un tipus de divisió cel·lular, diferent del conegut com a *mitosi*, capaç de portar a terme una reducció equilibrada en el nombre de cromosomes dels organismes de reproducció sexual que garantís el nombre de cromosomes de l'espècie després de la fecundació. El nom que se li va donar a aquesta divisió especialitzada va ser el de *meiosi* (vegeu la figura 2).

Malgrat l'existència d'una relació específica d'espècie en alguna de les etapes de la meiosi, la divisió meiòtica és universal. D'altra banda, cal recordar que en mamífers el dimorfisme sexual en la meiosi és habitual, i l'espècie humana no és una excepció al respecte. Els dos sexes utilitzen diferents estratègies, superen la meiosi amb nivells d'eficàcia molt diferents i obtenen un resultat final absolutament dissimilar (vegeu una revisió a Garcia Caldés i Roig, 2007).

PREPARATIUS PER A UN LLARG CAMÍ: ETAPA PREMEIÒTICA

Per a una divisió reduccional és necessària l'existència d'una etapa preparatòria. Aquesta etapa es correspon amb la fase S del cicle cel·lular premeiòtic, en la qual,

igual que ocorre en la mitosi, es produeix una replicació del material hereditari (DNA). Amb la replicació del DNA es genera una còpia del genoma de la cèl·lula, de manera que s'obtenen quaranta-sis cromosomes, cada un amb dues cromàtides idèntiques (cromàtides germanes). Aquestes es mantenen unides gràcies, fonamentalment, a unes estructures proteiques anomenades genèricament *cohesines*. Les cohesines són un complex proteic compost de diferents subunitats que servirà de base per a l'establiment del *complex sinaptonemal* (estructura bàsica de la profase meiòtica), i que intervindrà en la correcta segregació tant dels cromosomes homòlegs com de les cromàtides germanes en la divisió cel·lular. En aquest sentit es pot afirmar que la meiosi és dependent de S, ja que el seu èxit es basa en gran part en esdeveniments que han tingut lloc en la fase S premeiòtica.

UN CAMÍ AMB FESTEIG: APARELLAMENT I SINAPSI CROMOSÒMICA

La profase meiòtica és l'etapa més llarga de la meiosi i clàssicament s'ha subdividit en subestadis en funció principalment de la dinàmica dels cromosomes: leptotè, zigotè, paquitè i diplotè.

En el leptotè els cromosomes es compacten, s'individualitzen i donen lloc a estructures filamentoses que proporcionen al nucli una morfologia de cabdell; els centròmers es distribueixen a la perifèria del nucli i l'eix proteic de cohesines manté unides les cromàtides germanes. És sobre aquest eix on es dipositen altres proteïnes estructurals anomenades de manera genèrica SYCP, i es constitueixen en l'anomenat *element axial* entre les cromàtides germanes de cada cromosoma homòleg. És en aquest període que els cromosomes han d'iniciar un

acostament que faciliti el seu posterior aparellament. Es tracta d'un moviment a gran escala en el qual la cèl·lula utilitza com a estratègia l'acumulació de telòmers en una petita zona de l'embolcall del nucli. Aquesta polarització, que es coneix amb el nom de *bouquet*, presenta una morfologia totalment estructurada en el zigotè, i en la gametogènesi femenina es manté fins als inicis de l'estadi de paquitè (vegeu la figura 3a i Roig *et al.*, 2004). En la meiosi femenina el grau de compactació dels cromosomes

és molt menor que en el sexe masculí, de manera que s'afavoreix l'existència d'interrelacions heteròlogues, entrecreuaments, etc. És per això que, en el sexe femení, la cerca dels cromosomes homòlegs per poder alinear-se com a pas previ a l'aparellament és molt més llarga que en el masculí, i això provoca que l'estructura de *bouquet* duri més. En l'estadi de zigotè, els cromosomes homòlegs comencen el procés de sinapsi (vegeu la figura 3b), que comporta la unió física d'ambdós homòlegs mitjançant

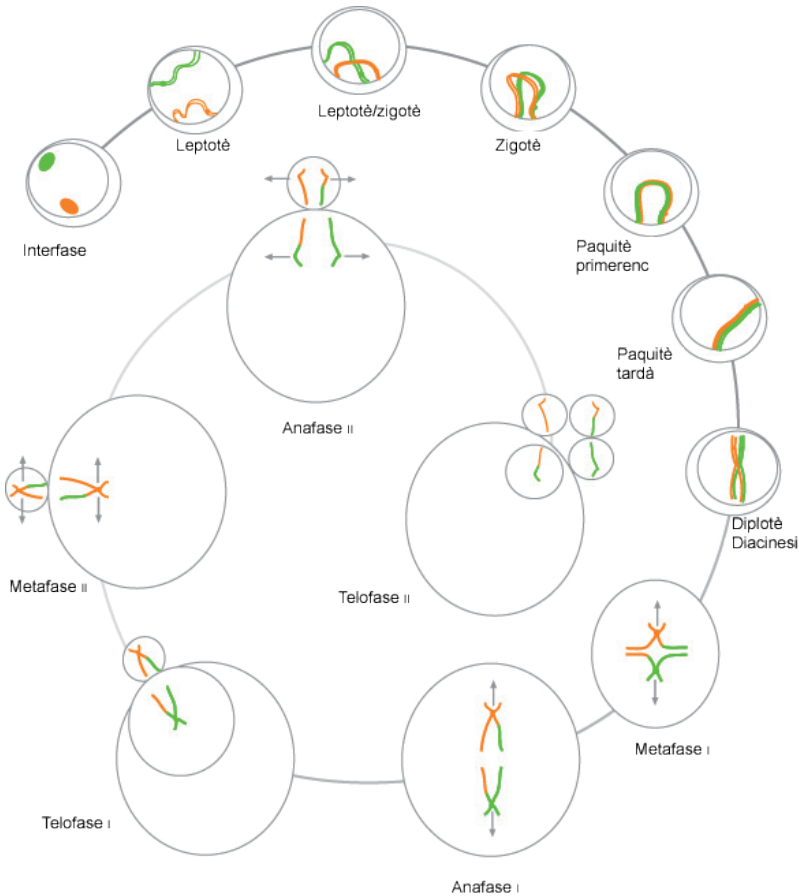


FIGURA 2. Esquema on s'indiquen les etapes fonamentals de la meiosi. Es mostren els processos d'aparellament, sinapsi, recombinació, segregació de cromosomes homòlegs i segregació de cromàtides germanes d'una sola parella de cromosomes homòlegs, entre els quals es produeix un únic entrecruament visualitzat posteriorment en un sol quiasma.

la formació del complex sinaptnemal, estructura tripartida formada per l'element axial de cada homòleg i un element central que serveix d'unió. L'estructuració del complex sinaptnemal, tal i com ja s'ha comentat, estabilitza la unió i facilita la sinapsi cromosòmica. En femelles de mamífer l'inici de l'aparellament cromosòmic és intersticial i subtelo mèric, i la velocitat amb què aquest procés té lloc, tal i com s'ha assenyalat, és molt més lenta. De totes maneres, en l'estadi de paquitè tots els cromosomes estan, en condicions de normalitat, totalment aparellats al llarg de tota la seva longitud i la sinapsi és total. En el cas de la femella humana les dades que fan referència als cromosomes 13, 18, 21 i X indiquen clarament que el procés d'aparellament i sinapsi en l'oogènesi es pot considerar altament eficient i sense diferències significatives entre cromosomes segons la forma, la mida o el contingut de DNA (vegeu-ne una revisió a Robles *et al.*, 2007). Així doncs, els cromosomes homòlegs d'origen matern i patern són capaços de resoldre l'aparellament i sinapsi amb total eficiència. En el diplotè els cromosomes homòlegs se separen i es mantenen units únicament per les zones on ha existit recombinació (que s'anomenen *quiasmes*).

Els humans presenten una gametogènesi femenina discontinua. Aquesta discontinuïtat també afecta la meiosi: tal com ja s'ha fet esment, els oòcits que arriben al diplotè no continuen la primera divisió meiótica i no reprenen el procés fins passat molt temps, que pot arribar a ser de cinquanta anys. Durant tot aquest període, anomenat dictiotè, l'oòcit inicia un nou període de desenvolupament íntimament lligat a la folliculogènesi: inicia una nova etapa G_2 en la qual la seva mida es multiplica i fins i tot pot adquirir la capacitat de reiniciar i adquirir la competència meiótica en determinades condicions. La configuració ober-

ta i de poca compactació que adquireix la cromatina en el dictiotè afavoreix la transcripció continuada i facilita l'acumulació de productes essencials per a la consecució de les següents etapes de la gametogènesi, fins i tot de les primeres etapes de l'embriogènesi. És amb els processos de reclutament i de formació de fol·licles ovulatoris que l'oòcit madura i es permet la finalització de la primera divisió meiótica amb l'obtenció d'un oòcit en la metafase II (vegeu la figura 1).

INTERCANVIS DE PARELLA: RECOMBINACIÓ

Un altre dels processos importants que té lloc durant la profase meiótica és la recombinació. En aquest, l'intercanvi entre cromàtides homologues proporciona un increment de variabilitat de generació en generació. Però no solament això: també manté units els cromosomes homòlegs per tal d'aconseguir una bona disjunció d'aquests en la metafase I. En aquest sentit, des de fa molts anys, s'ha fet evident que els quiasmes, l'evidència citològica dels punts on hi ha hagut recombinació, tenen un paper central en la gènesi d'aneuploidies.

La recombinació meiótica s'inicia amb l'aparició de trencaments de doble cadena en el DNA (*double strand breaks*, DSB). Es pensa que existeix una estreta correlació entre l'habilitat de portar a terme la replicació del DNA en l'etapa S premeiótica i la de portar a terme els trencaments. En aquest sentit, la recombinació es considera dependent de l'etapa S premeiótica. Aquests trencaments, múltiples i programats, són imprescindibles no solament per a una adequada recombinació, sinó també per a una correcta sinapsi cromosòmica, encara que no se sap gaire cosa de la possible relació d'ambdós processos. És més, respecte a la possi-

ble relació de la recombinació amb l'aparellament i sinapsi no existeix consens. En humans, tal i com passa en la majoria d'espècies estudiades, s'ha vist que la recombinació s'inicia en els inicis de l'estadi de leptotè, abans que s'estableixi l'aparellament i la sinapsi cromosòmica, gracies a l'acció d'una endonucleasa (SPO11) que provoca els trencaments de doble cadena. L'evolució dels trencaments fins a l'establiment del quiasma és un procés que implica l'actuació de múltiples complexos proteics que intervenen en la reparació d'aquests trencaments. De totes maneres, es desconeix què és el que facilita la invasió d'una cromàtida paterna en la materna i com s'evita la invasió entre cromàtides germanes. Des d'un punt de vista molecular, tot sembla indicar que és en el paquità quan es resolen les estructures que permeten la finalització de la recombinació i, per tant, la visualització citològica dels intercanvis, mitjançant la proteïna de reparació anomenada MLH1, que forma part d'un complex proteic que establiria el quiasma (vegeu la figura 3c).

La recombinació sempre es porta a terme en zones no heterocromàtiques i, en el cas de la femella, fonamentalment en les zones intermèdies dels braços cromosòmics eucromàtics. La distribució dels punts d'intercanvi o la determinació en cap cas té lloc a l'atzar. És més, existeixen llocs específics que poden ser considerats com punts calents de recombinació, però que poden variar en funció del sexe i de l'espècie estudiada. Tot fa pensar que el control i determinació dels punts d'intercanvi és molt complex, variable, i es pensa que també heterogènic. Tot sembla indicar que en el procés de recombinació existeix un gran dimorfisme sexual, que es manifesta en el nombre i distribució dels punts de recombinació. Malgrat l'existència d'un nombre d'estudis molt limitat (vegeu-ne una revisió a Garcia-Cruz *et al.*, 2008), de moment es pot concloure que en el

mascle existeix una gran concordança entre el nombre de quiasmes descrits, el nombre de punts de recombinació posats de manifest per la presència de MLH1 i els resultats en aquest sentit provinents d'estudis indirectes de lligament. Al mateix temps, també s'observa que, en el mascle humà, existeix una certa heterogeneïtat interindividual i intraindividual (calculada a partir dels coeficients de variació dels punts de recombinació, dels quiasmes i dels estudis indirectes d'enllaçament), que oscilla entre un 3 % i un 12 %.

En la femella humana, les dades que es tenen són encara més minses que les del mascle i molt més difícils de resumir. Primer de tot, és important tenir en compte que en oòcits no hi ha cap comptatge de quiasmes a causa de la gran complexitat de l'anàlisi mateixa. En segon lloc, hi ha molts pocs estudis que descriguin el nombre i distribució dels punts de MLH1 i, malauradament, aquests no acaben d'encaixar amb els resultats proporcionats pels estudis indirectes. De tota manera, malgrat aquestes contradiccions, tots els autors coincideixen en una dada: en la femella humana existeix una gran heterogeneïtat interindividual i intraindividual, molt superior a la de mascle. Si es té present que teòricament són necessaris com a mínim dos punts de recombinació per cromosoma metacèntric i submetacèntric, així com un de sol per cromosoma acrocèntric per assegurar que els homòlegs es mantinguin units fins a la metafase I (quaranta-un punts de recombinació), la gran heterogeneïtat descrita juga en contra de la salut, cromosòmicament parlant, dels oòcits. Les poques dades existents fins al moment ens indicarien que hi ha una gran quantitat d'oòcits, superior al 18 %, amb un comptatge de MLH1 per sota del valor mínim necessari per arribar en condicions adequades a la metafase I (Robles *et al.*, 2009). Aquests oòcits fora del llindar

descriu (menys de quaranta-un punts de recombinació) podrien explicar la gran quantitat d'òcits desequilibrats que s'han descrit en la metafase I.

Amb la intenció d'entendre la possible implicació de la recombinació meiótica en l'origen de l'autosomopatia més freqüent en nadons, la síndrome de Down, els treballs relacionats amb la recombinació en la meiosi humana s'han dirigit particularment al cromosoma 21. De les poques dades publicades al respecte es pot concloure que:

a) Tant en mascle com en femella humana, el nombre de punts d'intercanvi que es produeixen en el bivalent 21 presenta molt poca heterogeneïtat. És a dir, la contribució del cromosoma 21 a l'heterogeneïtat global dels valors de MLH1 en òcits humans és mínima. De fet, el cromosoma 21, entre tots els cromosomes estudiats fins al moment, és el que mostra l'heterogeneïtat més baixa. Tot fa pensar, doncs, que el bivalent 21 quasi sempre arribaria al mínim llindar que li assegura una correcta disjunció.

b) Tant en mascle com en femella no hi ha una distribució a l'atzar dels punts de recombinació, però el que sí que es fa evident és que hi ha una diferència de sexe en la seva posició relativa dins el bivalent (terminal en espermatòcits enfront d'intersticial en òcits). En aquest sentit cal tenir present que, tradicionalment, s'ha considerat que els punts de recombinació intersticials asseguren un lligam més estable en el temps que els situats en posicions terminals.

c) Les freqüències de bivalents 21 sense punts de recombinació són equivalents en mascle i femella. Per tant, el risc de no-disjunció per absència de quiasmes seria equivalent en ambdós sexes.

d) En la femella hi ha un lleuger increment de punts de recombinació en el bivalent 21 (respecte als valors descrits en mascle), la qual cosa teòricament faria encara més estable la unió dels dos homòlegs.

Si tenim en compte, tal i com hem comentat, que l'eficiència de l'aparellament dels homòlegs 21 és molt alta, les dades comentades dels estudis de la recombinació en el bivalent 21 ens permetrien confirmar que la configuració quiasmàtica del cromosoma 21 és més estable en òcits humans que en espermatòcits humans. Tot això permet concloure que l'origen, predominantment matern, de la trisomia 21, no pot correspondre a errors de sinapsi, a la presència de quiasmes inestables ni tampoc a l'absència de quiasmes en si mateixos.

Pel que fa a les dades dels cromosomes 13 i 18, tot ens fa pensar que, tal com ja s'ha esmentat, la sinapsi cromosòmica és un procés també molt fiable i segur. De totes maneres, s'ha vist que la taxa d'homòlegs desparellats en el diplotè és significativament superior a la que s'observa en el paquet (1,3 % i 0,13 %, respectivament). Aquestes dades fan pensar en l'existència de problemes en la recombinació que, en aquests cromosomes, afavoririen que els bivalents respectius arribessin al diplotè sense la necessària connexió establerta pels quiasmes. En aquest cas, l'absència de recombinació o el processament inadequat es podria traduir en la formació d'univalents que, arribats a la metafase I, podrien segregarse de manera independent i influir directament en l'aparició d'aneuploidies.

TOT S'ACABA: SEGREGACIÓ DE CROMOSOMES HOMÒLEGS I DE CROMÀTIDES GERMANES

Preguntes com per què la no-disjunció materna és molt més freqüent que la paterna, per què existeix un efecte de l'edat materna i sembla que no de la paterna, fins a quin punt els esdeveniments que tenen lloc en la vida fetal poden influir en els resultats observats en l'edat adulta com a problemes

de segregació, etc., estan, encara, sense resposta.

La necessària segregació cromosòmica que permet l'arribada de l'oòcit a la segona divisió meiótica presenta dos aspectes bàsics: el desplaçament i concentració dels cromosomes en l'equador del fus metafàsic, l'alineament dels bivalents amb els cinetocors dels dos cromosomes homòlegs orientats cap als pols oposats del fus i la separació d'aquests en pols oposats en la primera divisió meiótica. Si els bivalents fallen en l'orientació, la segregació dels cromosomes donarà origen a oòcits desequilibrats. De totes maneres, la coorientació dels cinetocors cap a un mateix pol no és suficient: es necessita també que les cromàtides germanes continuïn unides per les cohesines i que els cromosomes homòlegs estiguin connectats, almenys, per un quiasma.

Durant l'anafase, els cromosomes homòlegs se separen, i cadascun es dirigeix a un pol oposat. Aquest procés necessita l'eliminació dels complexos de cohesines dels braços dels cromosomes, de manera que només es mantinguin a les zones pericentromèriques de cada cromosoma. D'aquesta manera es possibilita la separació dels cromosomes homòlegs, però al mateix temps

s'impedeix la separació de les cromàtides germanes.

Finalment, en la telofase, els cromosomes s'apleguen en cadascun dels pols de la cèl·lula i es produeix la citocinesi, completa i desigual: l'oòcit II i el primer corpuscle polar. Ambdues cèl·lules són haploides, encara que cada cromosoma manté dues cromàtides germanes que probablement han recombinat. La transició envers la segona divisió és ràpida i directa fins a la metafase II (aquí no existeix interfase I, per tant, tampoc etapa S ni profase II) (vegeu la figura 3d). La segona divisió meiótica només acabarà si existeix la fecundació.

En resum, existeixen quatre processos que són específics de la primera segregació cromosòmica: presència de quiasmes que uneixen els cromosomes d'origen matern amb els paternals, cosegregació dels centròmers de les cromàtides germanes en la meiosi I, preservació de la cohesió de les cromàtides germanes en la zona centromèrica I, d'alguna manera, bloqueig en la cèl·lula que acaba la meiosi I d'una nova replicació de DNA abans d'entrar en la meiosi II. La segregació de cromàtides germanes que es porta a terme en la meiosi II, en cas d'existir la fecundació, ho tindrà quasi tot

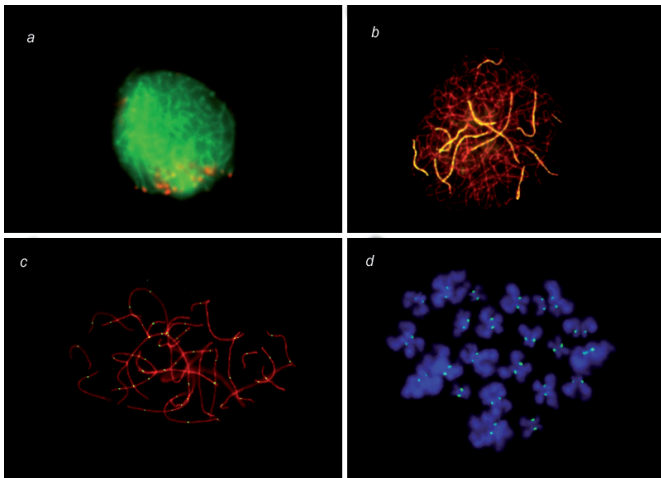


FIGURA 3. Algunes de les etapes fonamentals de la meiosi en oòcits humans (imatges obtingudes mitjançant immunofluorescència). a) Estructura de bouquet (en verd, proteïna SYCP3; en vermell, proteïna telomèrica TIN2). b) Sinapsi cromosòmica en l'etapa de zigotè (en verd, proteïna SYCP1; en vermell, cohesina REC8). c) Intercanvis en l'estadi de paquitè (en verd, proteïna MLH1; en vermell, proteïna SYCP3). d) Oòcit en metafase II (en verd, proteïnes centromèriques; en blau, DNA).

en comú amb la segregació típica de la mitosi.

ENVELLIMENT, UNA REALITAT MOLT INSISTENT: EFECTE DE L'EDAT MATERNA EN L'ORIGEN D'ANEUPLOÏDIES

És sobradament coneguda la relació directa entre l'augment de l'edat materna amb l'increment de la taxa d'aneuploïdies. El procés de segregació depèn de maquinàries cel·lulars, com el fus meiótic i les proteïnes de cohesió, per exemple, que de segur envelleixen i es deterioren. La relació existent entre problemes de segregació i edat materna continua, però, lluny de resoldre's. De totes maneres, es comencen a saber coses: s'han descrit models murins deficientes en una determinada cohesina que reproduïxen el patró observat en la dona (Hodges *et al.*, 2005). És a dir, en les femelles d'aquests ratolins, el risc de tenir descendència amb aneuploïdies augmentaria, clarament, amb l'edat materna. Altres estudis, encara més recents, també relacionen l'exposició a determinades substàncies considerades genotòxiques amb l'increment de la taxa d'aneuploïdies (Hunt, 2006). També, tot sembla indicar que les dones amb embarassos trisòmics diagnosticats entren en menopausa de mitjana un any abans que les dones d'un grup control, independentment de la seva edat. És a dir, totes aquestes dades d'alguna manera indiquen que la fisiologia de l'ovari podria trobar-se en l'origen de l'efecte d'edat materna (que pot o no coincidir amb l'edat cronològica i que de moment no podem generalitzar a tots els cromosomes).

En aquest sentit, podríem considerar que els sistemes que asseguren la segregació dels bivalents serien extremadament sensibles al medi en el qual han d'actuar i aquest,

és ben sabut, canvia dramàticament amb l'edat de la dona. Les dones amb condicions físiques perimenopàusiques presentarien un control menys precís de la maduració de l'oòcit, que desembocaria en aneuploïdia.

Altrament, no podem oblidar que, independentment de l'edat materna, la producció d'aneuploïdies es troba clarament vinculada a l'oogènesi. De fet, s'ha considerat que els sistemes de control en els processos clau de la gametogènesi (sinapsi, recombinació i segregació), almenys en altres espècies de mamífers, són molt més estrictes en espermatòcits que en oòcits. És a dir, mentre que un espermatòcit amb errors en aquests processos seria eliminat, un oòcit que presentés els mateixos problemes podria tirar endavant encara que això comportés la presència d'alteracions. Per exemple, en l'espermatogènesi existeix un sistema de control en la transició metafase I/anafase I que alenteix, i fins i tot impedeix, la segregació, quan no es dona una correcta alineació dels bivalents en la placa metafàsica o no existeix la connexió correcta, mitjançant els quiasmes, dels cromosomes homòlegs. Sorprenentment, les poques dades que existeixen d'aquest mecanisme de control en l'oogènesi indicarien que aquest sistema de control, en cas d'existir, no funciona correctament en oòcits. Tot i que no sabem fins a quin punt aquestes dades es poden extrapol·lar directament a l'espècie humana, el que sí que es podria dir és que l'aturada d'un oòcit que està cinquanta anys en dictiòtè podria magnificar els efectes d'uns sistemes de control poc rigorosos.

Així doncs, les particularitats especials que presenta la gametogènesi femenina, com són els dos bloqueigs meiótics, l'estreta relació entre l'oòcit i les cèl·lules fol·liculars o la llarga durada del procés (que pot arribar a durar fins a cinquanta anys), fan que l'estudi de l'oogènesi en humans sigui complicat. Tot i això, gràcies als estudis directes

i indirectes fets en oòcits humans, i també a la informació inferida dels models murins que s'han desenvolupat, s'ha començar a comprendre la naturalesa d'aquest fenomen. Malgrat tot, encara queden moltes qüestions sense resposta que hauran de ser estudiades per entendre millor aquest important problema per a la societat. A llarg termini, tenir un coneixement detallat de com es desenvolupa la gametogènesi femenina en humans podrà ser útil per aconsellar les parelles amb problemes de fertilitat o preveure possibles riscos derivats de la maternitat en edat avançada.

BIBLIOGRAFIA

- GARCIA CALDÉS, M.; PONSAR ARJONA, I. (2005). «Introducción a las bases celulares y genéticas de la gametogénesis femenina». A: CABERO, L.; CABRILLO, E. [ed.]. *Tratado de ginecología, obstetricia y medicina de la reproducción. Tomo I*. Madrid: Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia; Ed. Médica Panamericana, 50-57.
- GARCIA CALDÉS, M.; ROIG, I. (2007). «La gametogénesis femenina. Bases celulares y genéticas». A: CABERO, L. M.; SALDÍVAR, D.; CABRILLO, E. [ed.]. *Obstetricia y medicina materno-fetal*. Madrid: Ed. Médica Panamericana, 107-115.
- GARCIA-CRUZ, R.; ROIG, I.; GARCIA-CALDÉS, M. (2009). «Maternal origin of the human aneuploidies. Are homologous synapsis and recombination to blame? Notes (learned) from the underbelly». A: BENAVENTE, R.; VOLFF, J. N. [ed.]. *Genome dynamics. Meiosis*. Basilea: Karger Publishers, 128-136.
- HASSOLD, T.; HUNT, P. (2001). «To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy». *Nature Reviews Genetics*, 2: 280-291.
- HODGES, C. A.; REVENKOVA, E.; JESSBERGER, R.; HASSOLD, T. J.; HUNT, P. A. (2005). «SMC1beta-deficient female mice provide evidence that cohesins are a missing link in age-related nondisjunction». *Nature Genetics*, 37: 1351-1355.
- HUNT, P. (2006). «Meiosis in mammals: recombination, non-disjunction and the environment». *Biochemical Society Transactions*, 34: 574-577.
- ROBLES, P.; ROIG, I.; GARCIA, R.; BRIEÑO, M.; MARTÍN, M.; BARBERO, J. L.; CABERO, L.; GARCIA CALDÉS, M. (2009). «Analysis of the recombination process along chromosome 21 during human female pachytene stage». *Reproductive Biomedicine Online*. [En premsa]
- ROBLES, P.; ROIG, I.; GARCIA, R.; EGOZCUE, J.; GARCIA, M. (2007). «Pairing and synapsis in oocytes from female fetuses with euploid and aneuploid chromosome complements». *Reproduction*, 133: 899-907.
- ROIG, I.; LIEBE, B.; EGOZCUE, J.; CABERO, L.; GARCIA, M.; SCHERTHAN, H. (2004). «Female-specific features of recombinational double-stranded DNA repair in relation to synapsis and telomere dynamics in human oocytes». *Chromosoma*, 113: 22-33.