

3.2.1. CS en individus amb cariotip mitòtic normal

Un total de 108 individus infèrtils amb cariotip mitòtic normal formen la sèrie estudiada per nosaltres en aquest treball (taula III).

Atenent-nos a les figures de complexos sinaptinèmics observades, els resultats obtinguts en aquests individus poden ésser distribuïts en quatre grups:

- Individus amb formació normal de complexos sinaptinèmics.
- Individus amb bloqueig meiòtic total en estadis pre-paquitènics.
- Individus amb anomalies als complexos sinaptinèmics.
- Individus amb absència total de complexos sinaptinèmics.

La freqüència d'aquests quatre grups en la nostra sèrie és representada a la taula VI i cada un d'ells serà tractat més àmpliament als apartats següents.

3.2.1.1. Individus amb formació normal de CS

Individus que presentaven una formació normal de complexos sinaptinèmics (fig. 26).

Podien ésser identificats tots els estadis de la profase i la formació i morfologia dels complexos sinaptinèmics era equiparable a la de qualsevol individu control (veure

	<u>Formació normal de CS</u>	<u>Bloqueig meiòtic pre-paquitènic</u>	<u>Anomalies dels CS</u>	<u>Absència total de CS</u>
108 individus estudiats	38 (35.2%)	23 (21.3%)	29 (26.8%)	18 (16.7%)

Taula VI: Sèrie de 108 biòpsies d'individus infèrtils, cromosòmicament normals, segons la formació de complexos sinaptinèmics.

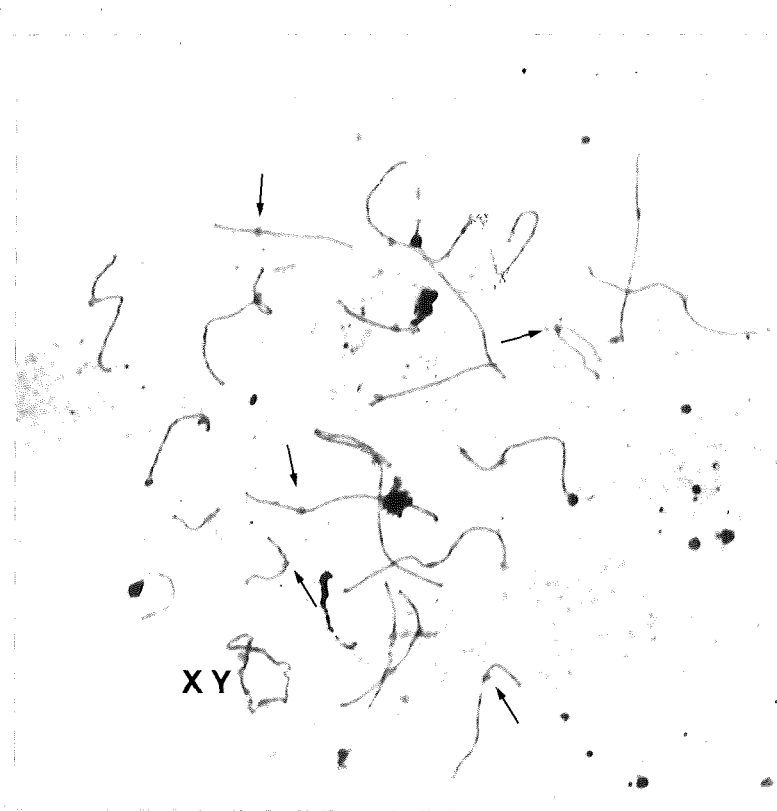


Figura 26.- Nucli paquitènic d'un individu infèrtil amb formació normal de CS. Podem diferenciar els 23,XY elements i en alguns CS es visible el cinetocor (fletxes).

3.1.1.). En tots els nuclis paquitènics, els CS apareixien amb els elements laterals aparellats, ben formats, podien ésser identificats (veure 3.1.3.) i el seu nombre era de 23,XY.

Aquest grup inclou els individus amb meiosi completa, així com aquells que presentaven un bloqueig mitjà de la meiosi però en els quals totes les figures de CS a l'estadi de paquitè eren normals (fig. 26).

3.2.1.2. Individus amb bloqueig meiòtic pre-paquitènic

Individus que presentaven un bloqueig meiòtic en estadis anteriors a paquitè; per tant totes les cèl.lules observades es trobaren en estadis pre-sinàptics (fig. 27).

En tots aquests individus el bloqueig es detectava degut a l'alt índex de fases de leptotè i/o zigotè (veure 3.1.2.) i absència total d'estadis més avançats.

3.2.1.3. Individus amb anomalies dels CS

Individus en els quals observem anomalies dels complexos sinaplinèmics (fig. 28) als nuclis estudiats a l'estadi de paquitè. Aquests individus, en general, presentaren alhora associat un bloqueig meiòtic més o menys dràstic detectable per l'alt índex de zigotès/paquitès observat.

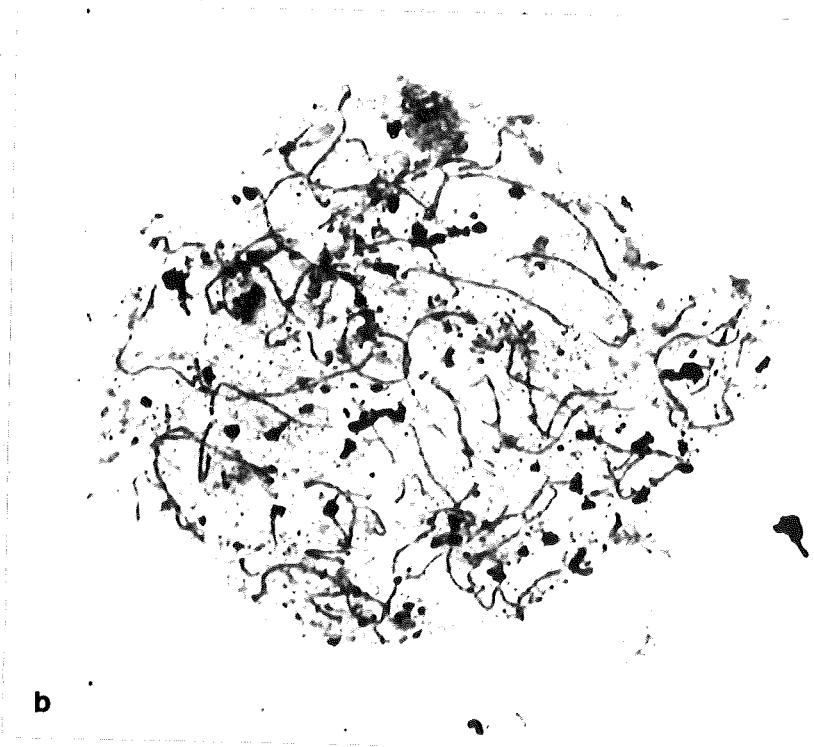
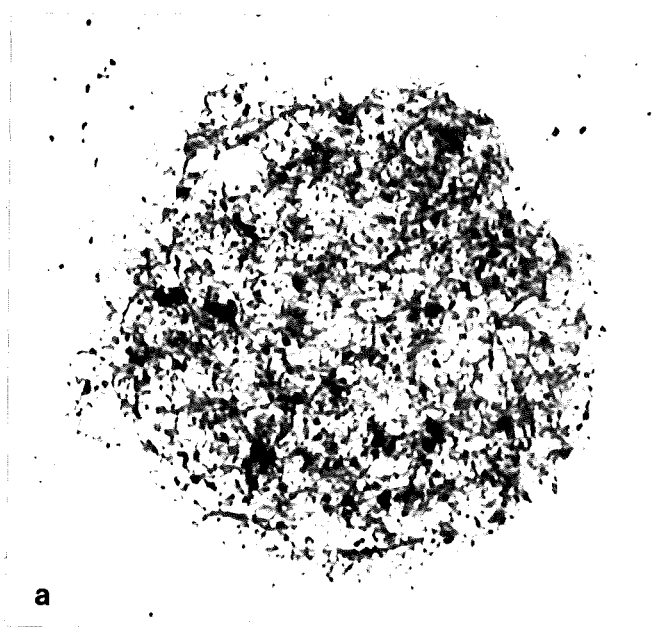


Figura 27.- Espermatòcits de dos individus que presentaven bloqueig meiótic total pre-paquitènic.
a) bloqueig a nivell de leptotè
b) bloqueig a nivell de zigotè.

Les formacions anormals dels complexos sinaptinèmics observades en els nuclis paquitènics d'aquests individus eren de tres tipus ben diferents:

A - presència de CS amb problemes d'aparellament dels seus elements laterals, ja sigui de forma terminal o intersticial (figs. 28 i 29). En tots els casos els elements laterals dels complexos sinaptinèmics que no aparellen eren perfectament visibles. Aquestes anomalies d'aparellament podien afectar un o més CS autosòmics. No hem observat en cap cas una falta total d'aparellament en tots els elements, cosa que donaria lloc a nuclis amb 46,X,Y elements.

B. - presència de complexos sinaptinèmics fragmentats, amb aspecte de troços (fig. 30). Aquesta fragmentació afecta sempre nombrosos CS dintre dels nuclis paquitènics.

C - presència als nuclis paquitènics de CS amb els elements laterals aparellats, però amb CS d'aparença laxa, on es diferencien clarament els elements laterals que formen part dels complexos sinaptinèmics (fig. 31). Aquestes formacions afecten sempre tots els CS autosòmics del nucli paquitènic on s'observen. Tenint en compte la poca qualitat dels nuclis observats amb aquestes formacions, no descartem la possibilitat d'un artefacte degut a l'extensió. Malgrat tot, i a l'observar aquesta situació associada a l'únic cas de desinapsi amb fragmentació estudiat en aquest treball, hem considerat adient incloure'l com un tipus d'anomalia de formació dels CS.

Els individus afectats podien presentar anomalies dels CS en totes les cèl.lules analitzades o bé tan sols en un determinat tant per cent de les mateixes.

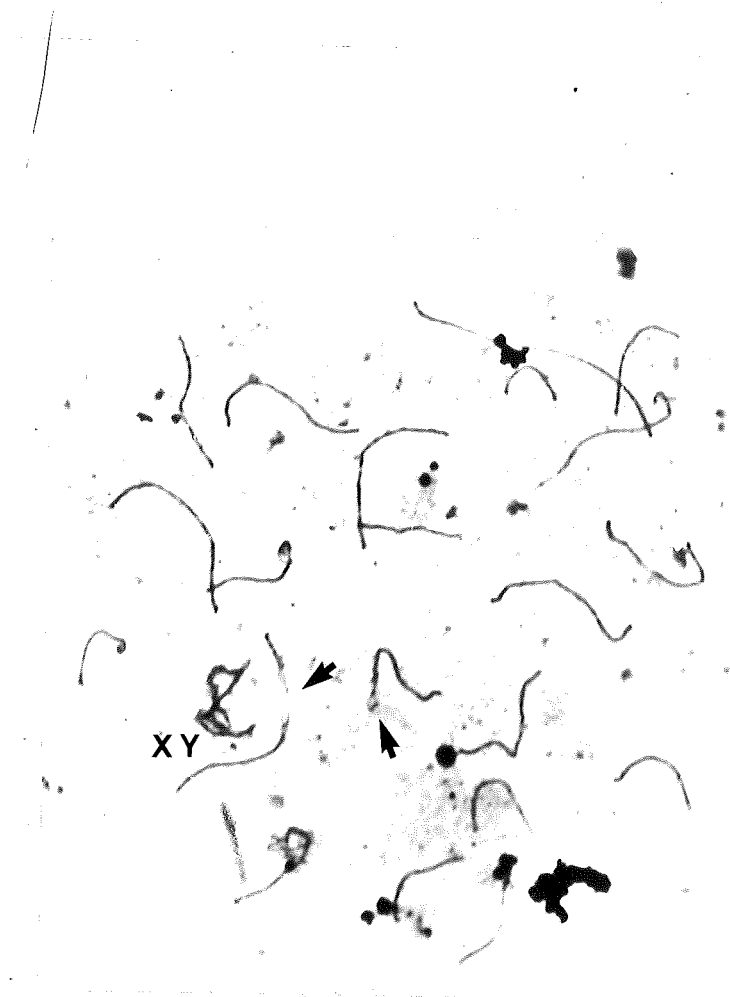


Figura 28.- Espermatòcit paquitènic humà amb anomalies en l'aparellament dels elements laterals, tant final com intersticialment, dels complexos si naptinèmics (fletxes).



Figura 29.- Espermatòcit paquitènic humà amb la presència d'anomalies d'aparellament en nombrosos elements (fletxes). En alguns CS podem diferenciar els cinetocors (cap de fletxa), i el bivalent sexual hi és perfectament identificable.

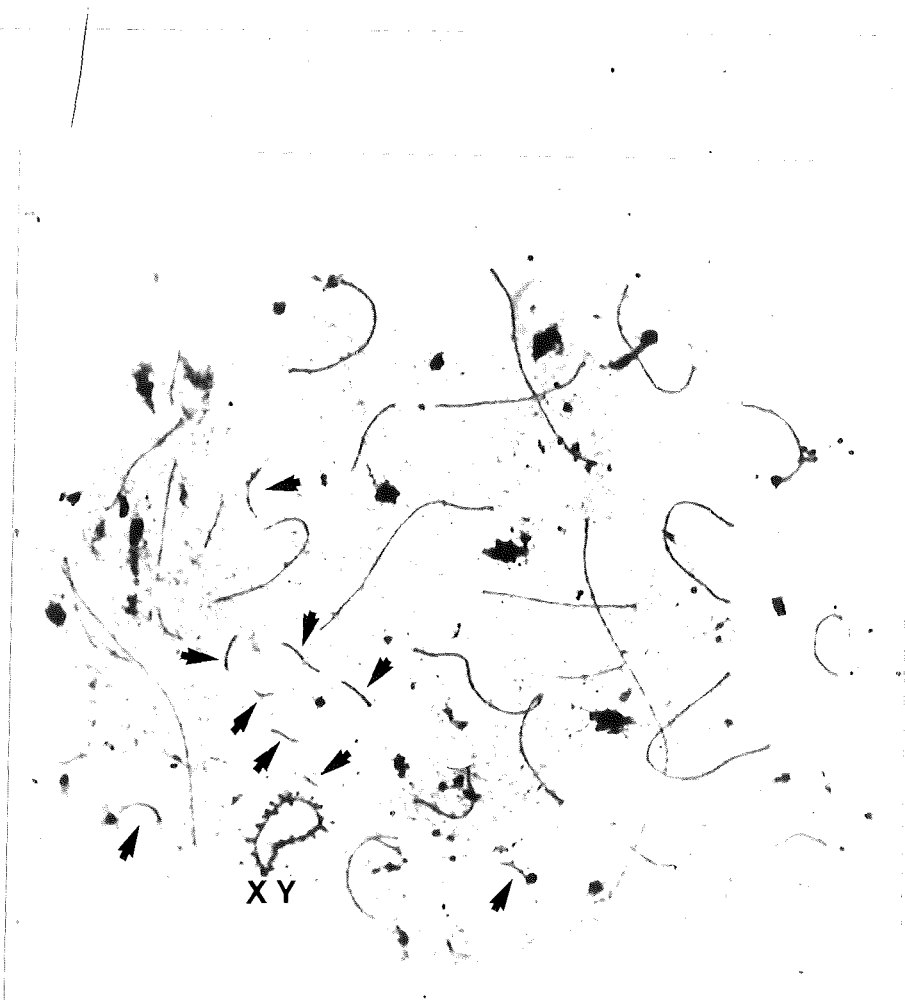


Figura 30.- Nucli paquitènic d'un pacient amb fragmentació de complexos sinaptinèmics. Els nombrosos fragments (fletxes) fan impossible la identificació dels CS; l'únic element clarament visible és el parell XY.

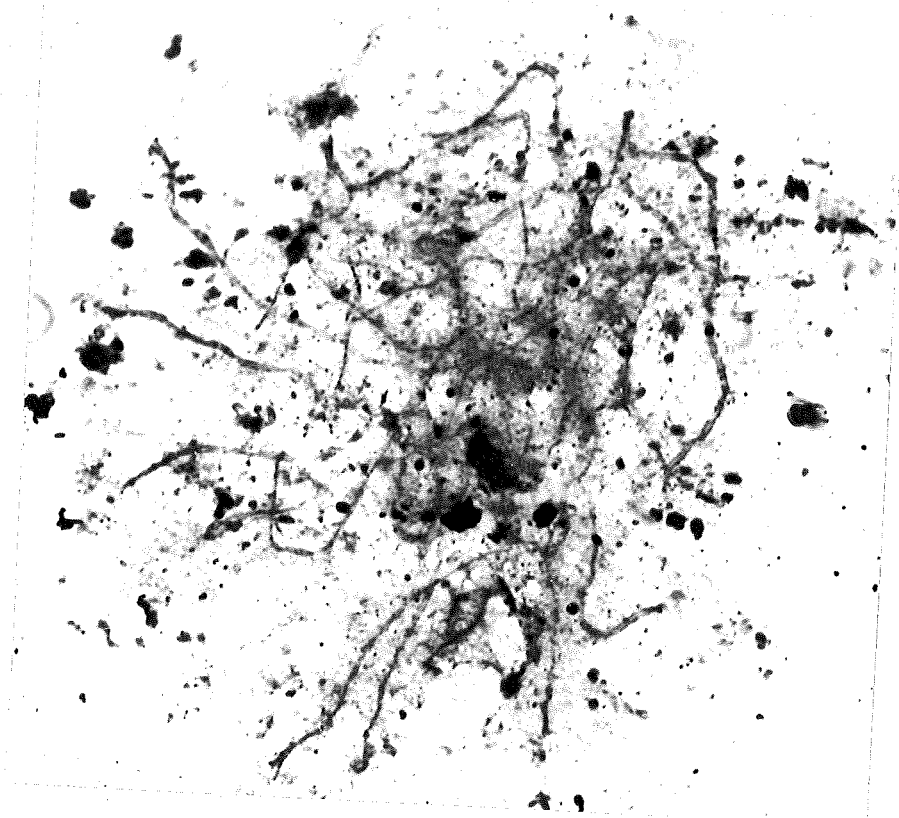


Figura 31.- Nucli paquitènic humà amb complexos sinaptinèmics d'aspecte laxe. Podem observar-hi l'aparellament dels elements laterals dels CS, però no d'engal-zament total.

3.2.1.4. Individus amb absència total de CS

Grup format per aquells individus en els quals no s'observaren complexos sinaptinèmics, ja sigui per no presentar cèl.lules germinals, o bé perquè no s'hi iniciava la divisió meiòtica. En cap cas no s'hi detectava la presència de CS, ni tan sols en estadis precoços de formació.

3.2.2. CS en individus portadors d'anomalies cromosòmiques

Aquest grup era format en la nostra sèrie per dos individus portadors d'anomalies cromosòmiques estructurals (l'un portador d'una translocació 14/21 i l'altre d'una translocació 13/14) i per un individu que presentava síndrome de Klinefelter en forma de mosaic 46,XY/47,XXY.

3.2.2.1. Formació dels CS en individus portadors de translocacions

Les preparacions de complexos sinaptinèmics presentaven, en ambdós casos, nombrosos nuclis profàsics. El predomini d'estadis de leptotè i zigotè evidenciava un bloqueig parcial en l'inici de profase.

Els nuclis paquitènics estudiats presentaven 22,XY complexos sinaptinèmics i la formació del trivalent corresponent

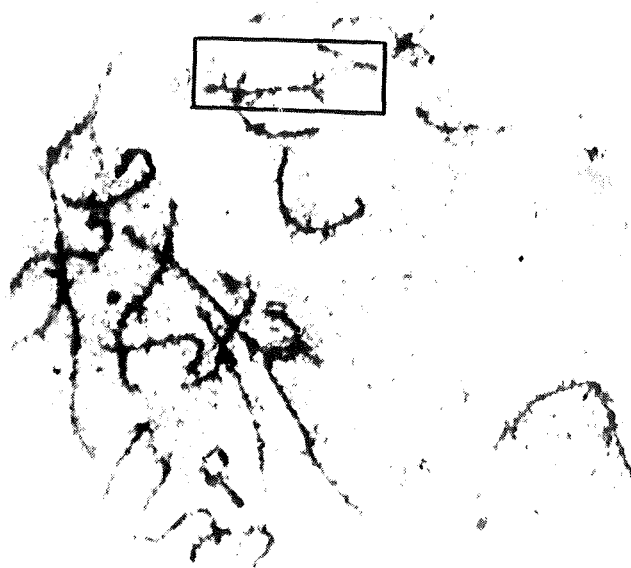


Figura 32.- Espermatòcit profàsic en un individu portador d'una translocació 14/21. Els CS que formen el trivalent són fàcilment identificables (requadre).

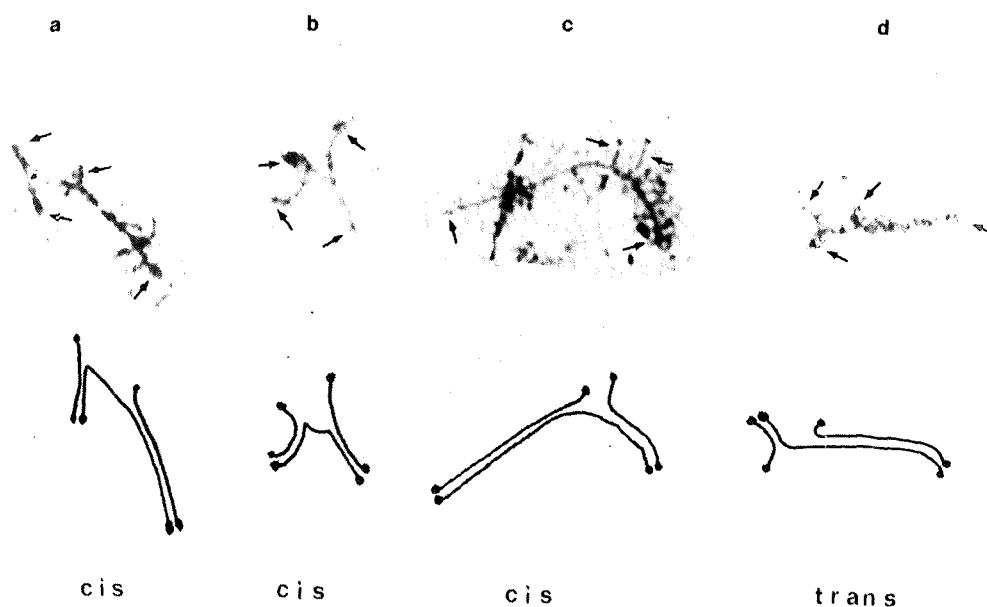


Figura 33.- Complexos sinaptinèmics corresponents als trivalentes formats en un individu portador d'una translocació 14/21.

a), b) i c) aparellament del trivalent en configuració cis.

d) aparellament del trivalent en configuració trans.

Les fletxes assenyalen els telòmers dels trivalentes.

en cada cas (fig. 32). El trivalent era identificable per la seva morfologia i mida, essent les configuracions sinàptiques presentades idèntiques a les esperades teòricament. Tots els trivalents estudiats presentaven un aparellament incomplet dels finals centromèrics dels elements acrocèntrics del trivalent. La regió aparellada dels trivalents no presentava diferències respecte a qualsevol altre CS. Algunes de les figures paquitèniques presentaven també complexos desinàptics.

En analitzar la geometria, en cis o trans (fig. 33), que presentaven els trivalents en les dues translocacions estudiades, hem observat un total predomini d'aparellament dels trivalents en configuració cis (99%) i tan sols en molt rares ocasions hem trobat cèl·lules que presentaven el trivalent en configuració trans (1%). Aquestes dades, només possibles d'obtenir mitjançant l'estudi dels CS, presenten un gran interès a l'hora de preveure la segregació dels cromosomes implicats en la translocació (veure discussió) i demostren la precisió en la detecció i caracterització de translocacions que ofereix l'estudi de CS amb microscopi òptic.

3.2.2.2. Formació de CS en la Síndrome de Klinefelter

El pacient estudiat era un individu que presentava un cariotip somàtic 46,XY/47,XXY amb aproximadament un 50% de cada línia cel·lular.

El nombre de figures profàsiques amb CS era molt abundant,

i ens permetia l'anàlisi acurada de 180 paquitès. Atenent-nos a les característiques dels nuclis paquitènics observats, podem reunir-los en tres grups:

a) nuclis paquitènics en els quals s'observava una formació normal de CS, amb els 22 elements autosòmics i el parell XY perfectament diferenciables (fig. 34). Aquestes cèl·lules correspondrien a la línia cel·lular 46,XY amb comportament meiótic normal fins a paquitè.

b) nuclis en els quals el seu recompte de CS reflectia 24 elements i en els quals no es diferenciava cap formació que pogués atribuir-se al parell XY (fig. 35). Aquestes cèl·lules podrien interpretar-se com les corresponents a la línia cel·lular 47,XXY en les quals la vesícula sexual no es formaria. La qualitat d'aquestes figures no va permetre un bon cariotipat dels CS, i per tant no podem demostrar l'aparellament entre les dues X i la presència de la Y sola, encara que sembla el cas més possible.

c) nuclis que presentaven una fragmentació de CS similar a la descrita anteriorment per a individus infèrtils cromosòmicament normals (veure 3.2.1.3.). La mateixa fragmentació feia impossible la identificació dels CS i per tant l'associació d'aquestes figures a una línia cel·lular o l'altra, (fig. 36).

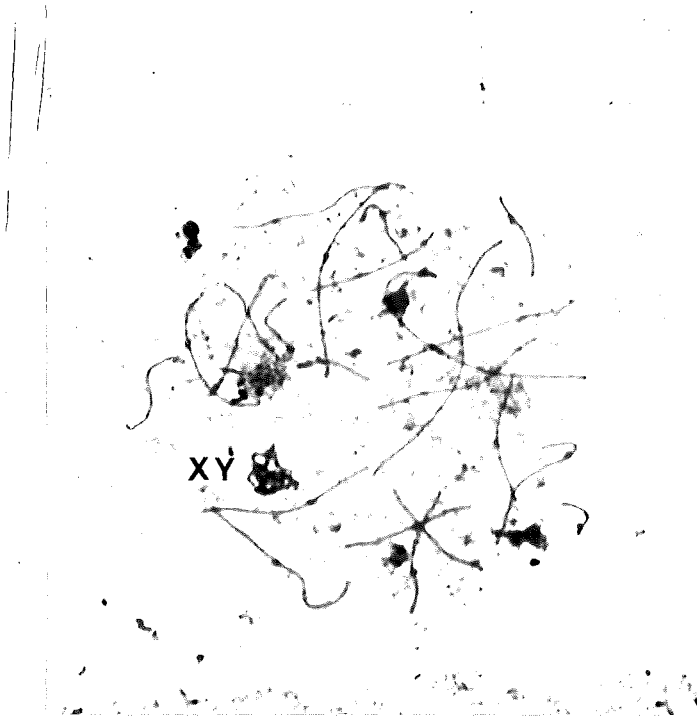


Figura 34.- Espermatòcit paquitènic d'un individu amb Síndrome de Klinefelter (46,XY/47,XXY), amb formació normal de complexos sinapteinèmics, presència de vesícula sexual i identificació de 23,XY elements.



Figura 35.- Espermatòcit paquitènic en un individu amb Síndrome de Klinefelter (46,XY/47,XXY), amb formació normal de CS; no s'hi detecta la presència del parell XY i es compten 24 CS.



Figura 36.- Espermatòcit paquitènic en un individu amb Síndrome de Klinefelter (46,XY/47,XXY), amb fragmentació de CS (fletxes).

3.3. Estudi meiòtic cromosòmic en individus infèrtils

L'estudi meiòtic convencional es va dur a terme paral·lelament al de complexos sinapteinèmics en tots els individus de la nostra sèrie, donant-nos així la possibilitat d'obtenir informació de les cèl·lules en divisió en la primera i segona divisió meiòtica.

El nombre de divisions meiòtiques estudiades i la seva qualitat depenia de l'individu analitzat en cada cas.

L'estudi dels cromosomes meiòtics es va dur a terme principalment a metafase I, cosa que permetia analitzar el nombre de bivalents, la presència d'univalents o multivalents i calcular la freqüència de quiasmes que presentaven els bivalents autosòmics. Alhora, i principalment en els individus que presentaven bloqueig meiòtic a nivell d'espermatoïcit primari, s'estudiaven les figures en profase I a fi i efecte d'intentar detectar possibles anomalies d'aparellament entre els bivalents i la presència o absència de vesícula sexual.

Segons els resultats de l'estudi meiòtic convencional, els individus estudiats en aquest treball poden ésser distribuïts en els grups següents:

- 1 - Individus amb bloqueig complet a nivell d'espermatoïcit primari. Les úniques figures meiòtiques observades en les preparacions d'aquests individus eren figures profàsiques molt inicials.
- 2 - Individus amb bloqueig complet a nivell d'espermatoïcit primari i amb presència d'anomalies d'aparellament en

les figures profàsiques paquitèniques estudiades.

- 3 - Individus que presentaven algunes figures meiòtiques en metafase I amb aspecte normal però amb un bloqueig bastant dràstic a nivell d'espermatòcit primari (oligozoospermia severa o azoospermia).
- 4 - Individus amb comportament meiòtic normal i grau intermedi de bloqueig meiòtic (oligozoospermia). A les preparacions d'aquest grup d'individus podien observar-se tots els estadis de la meiosi.
- 5 - Individus amb desinapsi completa de bivalents (Templado i col., 1980). Les preparacions meiòtiques estudiades presentaven un aparellament cromosòmic normal fins al paquitè, però amb una baixa freqüència de quiasmes a la metafase I entre els bivalents autosòmics (veure 1.4.).
- 6 - Individus amb desinapsi individual de bivalents (Templado i col., 1982). Les figures meiòtiques observades tenien característiques molt similars a les del grup anterior, però les metafases I afectades presentaven tan sols alguns dels bivalents autosòmics amb baixa freqüència de quiasmes (veure 1.4.).
- 7 - Individus amb anomalies cromosòmiques estructurals (veure taula III). Les preparacions meiòtiques demostren la presència dels multivalents corresponents en cada cas.
- 8 - Individus amb anomalies numèriques (Síndrome de Klinefelter). Les úniques figures meiòtiques observades corresponien a escases profases I de poca qualitat.

9 - Individus que presentaven un comportament meiótic normal fins a la profase I i la presència a la metafase I d'univalents de petita mida, cosa que fins ara era considerada com a "normal".

10- Individus amb absència completa de cèl.lules germinals, ja sigui amb l'única presència de cèl.lules de Serto-li o bé amb absència total de cèl.lules a les prepara-cions estudiades.

La distribució i freqüència d'aquests grups és representa-da a la taula VII.

	<u>Individus</u>
Bloqueig complet espermatòcit primari	20
Bloqueig complet i anomalies d'aparellament a profase I	7
Escases metafases I i quasi bloqueig complet a espermatòcit primari	6
Meiosi normal i grau intermedi de bloqueig	38
Desinapsi completa bivalents	
. total	1
. parcial	3
Desinapsi individual bivalents	
. total	5
. parcial	2
. parcial amb fragmentació	1
Anomalies estructurals	2
Anomalies numèriques	1
Univalents de petita mida a metafase I	7
Absència cèl.lules germinals	18

Taula VII: Sèrie de 111 individus infèrtils segons el seu comportament meiòtic cromosòmic.

3.4. Estudi comparatiu dels resultats meiòtics convencionals i dels de complexos sinaptinèmics

Tenint en compte els resultats obtinguts mitjançant l'anàlisi de complexos sinaptinèmics (veure 3.2.) i els de l'estudi cromosòmic (veure 3.3.) realitzats paral·lelament, s'ha intentat relacionar ambdues dades en un conjunt que englobi aquests dos nivells de l'estudi de la meiosi en l'infertilitat masculina.

Segons aquestes dades els individus estudiats en aquest treball poden ésser distribuïts en quatre diferents grups:

- I - Comportament meiòtic normal
- II - Anomalies meiòtiques detectables per l'estudi cromosòmic i de CS
- III - Anomalies meiòtiques detectables tan sols per l'estudi de CS
- IV - Absència de cèl·lules germinals.

La freqüència d'aquests quatre grups al nostre treball és representada en la taula VIII i cada un d'ells serà tractat més ampliament als apartats següents.

3.4.1. Comportament meiòtic normal

Cromosòmicament, les preparacions d'aquest grup d'individus presentaven tots els estadis de la meiosi amb aspecte normal.

	Comportament meiòtic normal	Anomalies meiòtiques detectables per l'estudi cromosòmic i de CS	Anomalies meiòtiques detectables tan sols mit jançant l'estudi de CS	Absència de cèl.lules germinals
111 individus estudiats	38 (34.2%)	28 (25.3%)	27 (24.3%)	18 (16.2%)

Taula VIII: Sèrie de 111 individus infèrtils segons l'estudi conjunt cromosòmic i de CS.

L'estudi de CS reflectia una formació normal tot al llarg de la profase I i en l'estadi de paquitè l'aparellament entre els elements laterals dels complexos era total (fig. 37).

Aquest grup seria format pels 38 individus amb bloqueig intermedi de la meiosi (oligozoospermia) (veure taula VII).

3.4.2. Anomalies meiòtiques detectables a nivell cromosòmic

Les preparacions convencionals posaven de manifest un comportament meiòtic anormal (falles d'aparellament a profase, multivalents, metafases I desinàptiques, etc...).

L'estudi de complexos sinaptinèmics presentava una formació anormal dels complexos amb anomalies d'aparellament a paquitè o CS fragmentats.

Aquest grup seria format pels 7 casos de bloqueig meiòtic complet amb anomalies d'aparellament a la profase, els 12 casos que presentaven desinapsi, els dos casos amb anomalies estructurals i els 7 casos amb univalents de petita mida a la metafase I (fig. 38 i 39).