



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Relación de los cúmulos perinucleares de SYCP3  
con las etapas de la profase meiótica I  
durante la primera onda espermatogénica**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**Biólogo**

**P R E S E N T A:**

**ANTONIO MAXIMILIANO ORTÍZ RODRÍGUEZ**



**DIRECTORA DE TESIS:  
DRA ROSARIO ORTÍZ HERNÁNDEZ  
CIUDAD DE MÉXICO, 2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Hoja de datos

### 1.- Datos del alumno

Apellido Paterno	Ortíz
Apellido Materno	Rodríguez
Nombre (s)	Antonio Maximiliano
Teléfono	50330420
Universidad	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad	Facultad de Ciencias
Licenciatura	Biología
Número de cuenta	311320549

### 2.- Datos del tutor

Grado	Dra.
Nombre(s)	Rosario
Apellido Paterno	Ortiz
Apellido Materno	Hernández

### 3.- Datos del Sinodal 1

Grado	Dra.
Nombre(s)	Patricia
Apellido Paterno	Rivas
Apellido Materno	Manzano

### 4.- Datos del Sinodal 2

Grado	Dr.
Nombre(s)	Abrahan
Apellido Paterno	Hernández
Apellido Materno	Hernández

### 5.- Datos del Sinodal 3

Grado	Dra.
Nombre(s)	Olga Margarita
Apellido Paterno	Echeverría
Apellido Materno	Martínez

### 6.- Datos del Sinodal 4

Grado	Dra.
Nombre(s)	María Elena
Apellido Paterno	Calderón
Apellido Materno	Segura

### 7.- Datos del trabajo escrito

Título	Relación de los cúmulos perinucleares de SYCP3 con las etapas de la profase meiótica I durante la primera onda espermatogénica
Páginas	47
Año	2019

## Índice

<b>Abreviaturas</b> .....	1
Resumen .....	2
<b>Introducción</b> .....	3
Espermatogénesis .....	3
Ciclo espermático y onda espermatogénica .....	5
Meiosis .....	8
Complejo sinaptonémico .....	10
SYCP3 en la profase meiótica I .....	11
Leptoteno .....	12
Cigoteno .....	12
Paquiteno .....	13
Diploteno .....	13
Particularidades de SYCP3 .....	14
<input type="checkbox"/> Mutaciones en la secuencia de SYCP3 .....	14
<input type="checkbox"/> Policomplejos .....	14
<input type="checkbox"/> Cúmulos perinucleares de SYCP3 .....	15
Justificación .....	16
Hipótesis .....	17
Objetivos .....	17
Objetivo general .....	17
Objetivos particulares .....	17
Sujetos de estudio .....	17
Material y métodos .....	18
Obtención del material biológico .....	18
Elaboración de dispersiones .....	19
Elaboración de inmunodetecciones .....	19
Observación .....	20
Conteo celular .....	20
Resultados .....	21
Adulto .....	21
13 días .....	24
16 días .....	26
20 días .....	28
27 días .....	30

Conteo celular en la primera onda espermatogénica .....	33
Conteo celular total .....	34
Modelo morfológico propuesto de CPN-SYCP3.....	35
Discusión.....	36
Conclusiones .....	40
Perspectivas .....	41
Referencias .....	42

## Abreviaturas

CPN-SYCP3	Cúmulos perinucleares de SYCP3
CS	Complejo sinaptonémico
DAPI	4',6-diamino-2-fenilindol
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DTT	Ditiotreitol
EA	Elemento axial
EC	Elemento central
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EL	Elemento lateral
FITC	Isotiacianato de fluoresceína
FT	Filamento transversos
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropina
KO	Knock out
PC	Policomplejos
PMI	Profase meiótica I
PMSF	Fluoruro de fenilmetilsulfonilo
RC	Región central
RT	Rojo Texas
SYCP1	Synaptonemal Complex Protein 1
SYCP2	Synaptonemal Complex Protein 2
SYCP3	Synaptonemal Complex Protein 3

## Resumen

Los espermatoцитos primarios, células en proceso meiótico, presentan una estructura exclusiva denominada complejo sinaptonémico (CS) la cual es esencial para la sinapsis y recombinación de los cromosomas homólogos. La SYCP3 y SYCP1 participan en el ensamblado del CS y son los marcadores clásicos para demostrarlo. Estudios previos de nuestro grupo de trabajo han descrito la presencia de cúmulos de SYCP3 hacia la envoltura nuclear en espermatoцитos de ratas prepúberes, lo que es inusual en los espermatoцитos de ratas adultas.

En este trabajo se presenta la relación de los cúmulos perinucleares de SYCP3 con las etapas de la PMI durante la primera onda espermatogénica, describiendo sus características morfológicas, porcentajes y la etapa de la PMI en que se observan. Se utilizaron testículos de ratas Wistar prepúberes de 13, 16, 20, 27 días de edad y de ratas adultos como controles. Se realizaron dispersiones de las células en espermatogénesis y se les realizó inmunofluorescencia simultánea de SYCP3 y SYCP1. En el material dispersado se cuantificaron los espermatoцитos y se calcularon los porcentajes de presencia de los cúmulos de SYCP3 en las células en la PMI.

En el análisis de las inmunolocalizaciones fluorescentes se observó que los ELs y el CS presentan las características morfológicas típicas para cada una de las etapas de la PMI tanto en los organismos prepúberes como en los adultos. Sin embargo, también fue evidente la presencia de acumulaciones de la proteína SYCP3 no incorporada a los ELs en las ratas prepúberes, siendo las células en estadio de paquiteno las que tienen la mayor frecuencia de acumulaciones. Asimismo, se observó que a los 20 días de edad se presenta el mayor número de células con acumulaciones de SYCP3 con respecto a las otras edades estudiadas. Estos resultados demuestran que los paquitenos de la primera onda espermatogénica son la población de espermatoцитos primarios que cuenta con más acumulaciones de SYCP3.

# **Relación de los cúmulos perinucleares de SYCP3 con las etapas de la profase meiótica**

## **I durante la primera onda espermatogénica**

### **Introducción**

En la mayoría de los mamíferos, la maduración sexual se lleva a cabo después del inicio de la pubertad, durante esta etapa ocurren una serie de cambios en el individuo en distintos niveles, En la pubertad, el eje reproductivo de los mamíferos se activa por eventos neuroendocrinos dentro del hipotálamo, por lo tanto, la pubertad es críticamente dependiente de la integridad de la actividad neuronal (College et al., 2010). La liberación de hormonas en altas frecuencias da inicio a la pubertad, lo que lleva finalmente a la formación de gametos (Sisk y Foster, 2004).

Una forma de estudiar los eventos que ocurren en la pubertad es analizando los cambios que se dan en las gónadas. Para el caso de los machos la evaluación morfológica de los testículos brinda información tisular y celular de la gametogénesis, entre otros procesos. En la mayoría de los mamíferos, los testículos son órganos pares que se encuentran en el saco escrotal, se interconectan por medio de un sistema de conductos y glándulas. Los testículos se dividen en lóbulos testiculares, dentro de los cuales se hayan los cordones seminíferos para el caso de los prepúberes o los túbulos seminíferos en el caso de los adultos y se componen de un epitelio que alberga células de sertoli, espermatogonias y otros tipos celulares derivados de la espermatogénesis (Ross *et al*, 2003; Young *et al*, 2013).

### **Espermatogénesis**

La espermatogénesis es la secuencia de eventos que se llevan a cabo en los túbulos seminíferos y que consiste en la multiplicación y diferenciación de las espermatogonias para formar los espermatozoides (Ross, 2003; Junqueira, 2005). La espermatogénesis se divide en



tres fases; la fase de proliferación mediante la cual las espermatogonias diploides de tipo A se dividen por mitosis de manera repetida y como resultado se forman las espermatogonias tipo B. La segunda fase es la meiosis que se presenta en los espermatocitos primarios, en este tipo celular se inicia la división reduccional o meiosis I y al concluir la primera división reduccional, se forman los espermatocitos secundarios. Estas células contienen un número haploide de cromosomas, pero en juegos duplicados y en ellas se inicia la segunda división meiótica ecuacional o meiosis II, al finalizar esta etapa se forman las espermátidas haploides redondas. En este tipo celular se inicia la fase de diferenciación o espermiogénesis, que conforma la tercera fase dentro de la espermatogénesis, las espermátidas redondas experimentan una transformación transitando hacia las espermátidas alargadas que finalmente darán origen a los espermatozoides, los que son liberados al lumen del túbulo seminífero (Figura 1.1 ) (Kerr, 2006; Sofikitis et al., 2008)

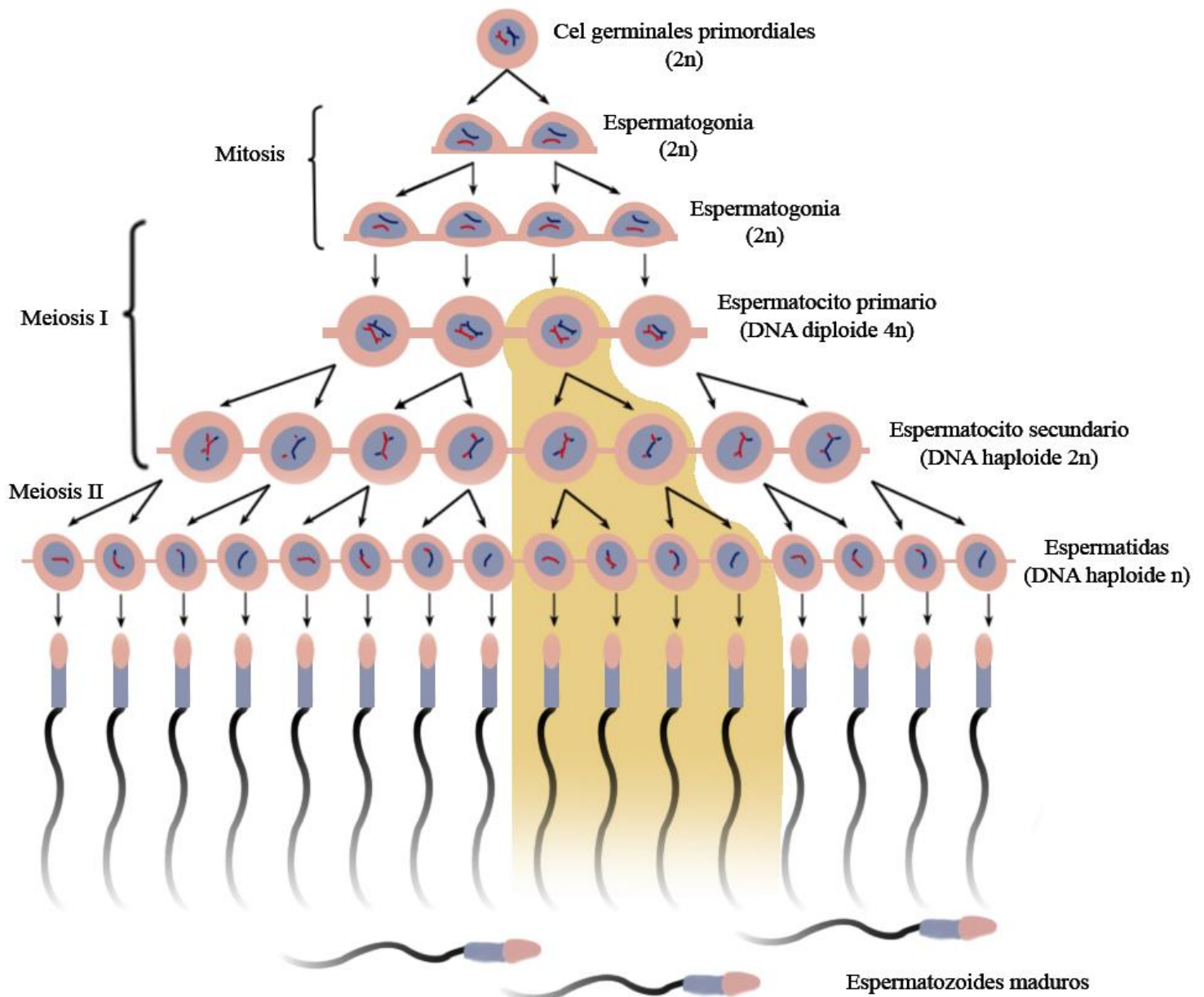


Figura 1.1 Diagrama de las fases de la espermiogénesis (Tomado y modificado de Boron y Boulpape, 2012).

### Ciclo espermático y onda espermatogénica

Cuando se analizan una preparación histológica de túbulos seminíferos con un microscopio óptico pueden observarse asociaciones de células en ciertas etapas de la espermatogénesis de manera muy constante y precisa lo largo de los túbulos seminíferos. Por lo tanto, la combinación de las células que coinciden en un corte transversal de un túbulo seminífero, es

una etapa de un ciclo. Dicho ciclo se conoce como el ciclo del epitelio seminífero y está conformado por 14 etapas en el epitelio de los túbulos seminíferos de testículo de rata (Figura 1.2). Estas asociaciones celulares designadas con números romanos se suceden y esta secuencia se repite de forma regular en el túbulo seminífero, de manera de manera que la última de las etapas es sucedida por la primera, formando un ciclo. Cada asociación o combinación celular definida representa un estadio del proceso secuencial de las células germinales dentro del proceso espermatogénico. El ciclo espermático por lo tanto se define como el tiempo necesario que le toma a una secuencia de asociaciones celulares o estadios del ciclo para cambiar en un punto determinado del túbulo seminífero, por lo que implica cambios en las asociaciones celulares a lo largo del tiempo (Russell et al., 2002). Catorce etapas han sido descritas para la rata, mientras que en ratones, cobayos y monos se han identificado doce (Kerr, 2006). Para el caso de la rata cada ciclo tiene una duración de 12.8 días (Hilscher et al. 1969).

Cuando se habla de la onda espermatogénica se refiere a los cambios que se dan a lo largo del túbulo seminífero esto es, el tipo de asociación que se presenta en la distancia, por lo que se podría decir que es como una *onda* que viaja siguiendo la longitud del túbulo seminífero (Figura 1.3). La onda es posible visualizarla en cortes seriados de los túbulos seminíferos. En la rata se ha descrito que la onda espermatogénica tiene una duración de 50 a 60 días aproximadamente (Russell et al., 1990; Adler, 1996).

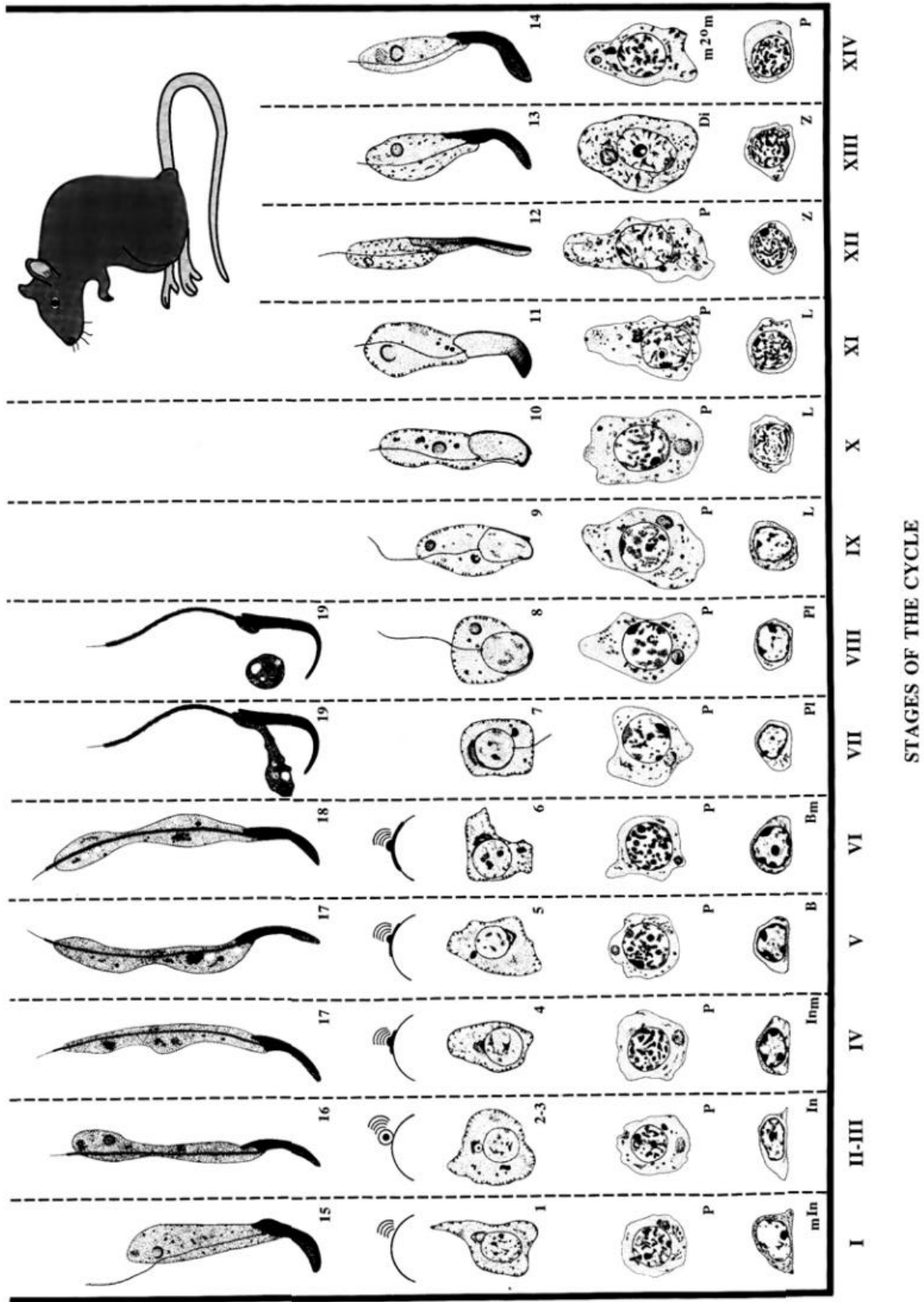


Fig. 1.2 Asociaciones celulares en el ciclo del epitelio seminífero en rata (Russel *et al.*,1990).

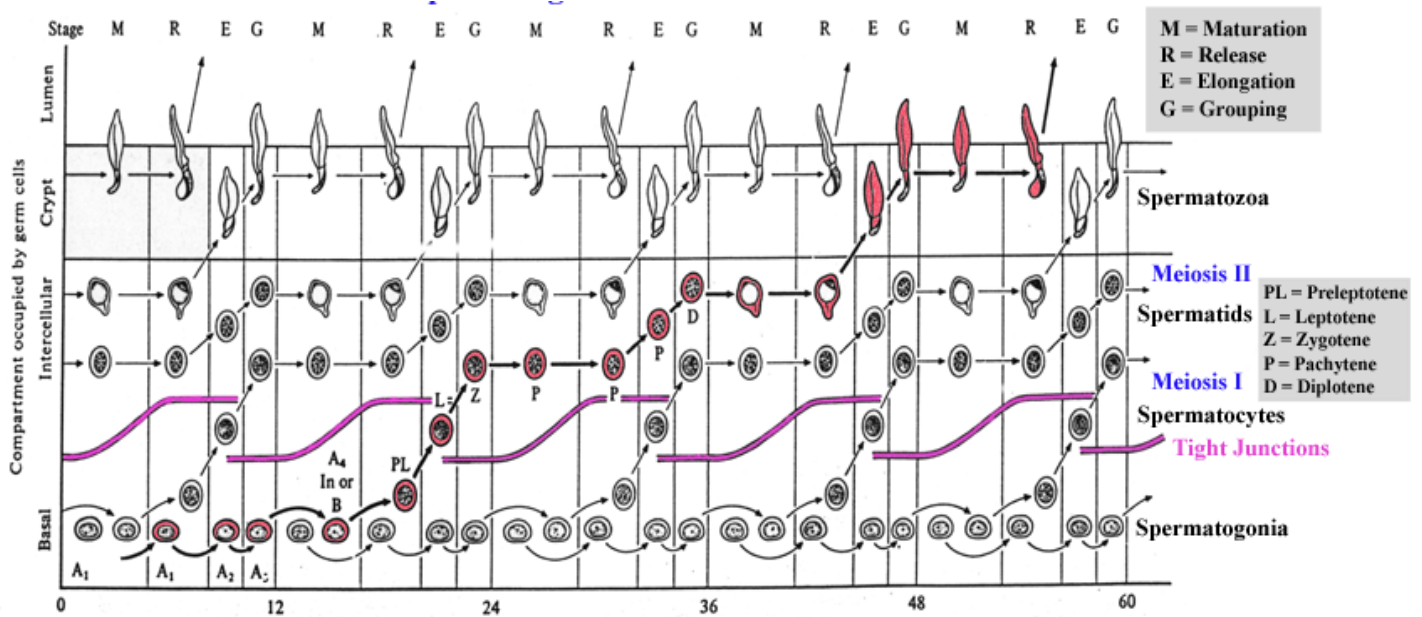


Figura 1.3 Esquema de la onda espermatogénica en ratas (Austin y Short, 1982).

## Meiosis

La meiosis es el tipo de reproducción celular especializada que se da solo en células germinales y que reduce el número de cromosomas de una célula ( $4n$ ) a la mitad ( $2n$ ), mientras que también crea nuevas combinaciones de alelos distribuidas a través de 4 células hijas ( $n$ ) mediante la recombinación y la segregación de cromosomas (Leonormand *et al.*, 2016). La meiosis consiste en dos divisiones denominadas división meiótica I y división meiótica II; cada una de estas divisiones meióticas se subdividen en 5 estadios: profase, prometafase, metafase, anafase y telofase. La profase meiótica de la meiosis I, es compleja y larga; las fases restantes de la meiosis son muy rápidas. La importancia de la PMI radica en que en este periodo se llevan a cabo los eventos de reconocimiento, apareamiento, sinapsis y recombinación genética de los cromosomas homólogos (Alberts *et al.*, 2008). La PMI se divide en 4 etapas generales, leptoteno, cigoteno, paquiteno y diploteno. Estas etapas se definen por sus características morfológicas y celulares, sin embargo, hay autores que

mencionan transiciones entre una etapa y otra, así como dependiendo del tiempo de la etapa, clasificándolo en temprano, medio y tardío. (Hunter, 2013; Karp *et al.*, 2008).

En la PMI, durante el leptoteno los cromosomas comienzan a condensarse y aparecen en forma de delgados hilos. En casi todos los organismos en esta etapa se lleva a cabo un evento programado de rompimientos de la doble cadena de DNA, por medio de la topoisomerasa Spo11. La reparación de estos rompimientos también propicia el inicio de la recombinación meiótica (Keeney *et al.*, 1997; Zickler y Kleckner, 1998). Las recombinasas Rad51 y DMCI estabilizan las interacciones entre las cadenas de DNA simple (Resultado del rompimiento de la doble cadena) y utilizan el DNA no roto, ya sea de la cromatina hermana o del cromosoma homólogo, como molde para la reparación del rompimiento formando así los nódulos de recombinación temprana (Roeder, 1997; Moens *et al.*, 2002). Durante el cigoteno el grado de condensación de los cromosomas aumenta con respecto al leptoteno, algunos pocos y selectos de los nódulos de recombinación entre cromosomas homólogos transitan hacia nódulos de recombinación medios en los que se localizan las recombinasas MSH4 y MSH5. Los cromosomas homólogos empiezan a formar un apareamiento o sinapsis mediante una estructura proteica conocida como el complejo sinaptonémico, al tiempo que los centrómeros y los telómeros de los cromosomas se adosan a la envoltura nuclear y se agrupan en un polo de la célula para formar una estructura parecida a un racimo o “bouquet” (Heyting, 1996; Zickler y Kleckner, 1998; Harper *et al.*, 2004; Schramm *et al.*, 2011; Shibuya *et al.*, 2015). En el paquiteno, a medida que los cromosomas se condensan las cromátidas se hacen más visibles, la configuración de “bouquet” se pierde y la sinapsis de los cromosomas se ve completada (Paniagua *et al.*, 1993; Solari, 1999; Karp *et al.*, 2008). Durante esta etapa los nódulos de recombinación se les consideran tardíos y se caracterizan por la presencia de las recombinasas MLH1 y la MLH3 (Moens *et al.*, 2002). Los nódulos de recombinación

tardía conforman los sitios de entrecruzamiento que se reconocen como quiasmas. Actualmente se ha demostrado que las cohesinas como SMC, o Rec8 están implicadas en la progresión de los nódulos donde ocurren los entrecruzamientos (Revenkova et al., 2004; Yang et al., 2008).

El diploteno es la última etapa de la profase meiótica I la cual se caracteriza por descompactación de los cromosomas, así como por la separación de los homólogos quedando unidos solamente por los quiasmas. El número y posición de los quiasmas varía entre los diferentes organismos (Zickler y Kleckner, 2015).

Las diferentes etapas del proceso meiótico pueden seguirse a través de la presencia de proteínas específicas, mismas que participan en la formación del Complejo Sinaptonémico durante la PMI.

### **Complejo sinaptonémico**

El complejo sinaptonémico (CS) es un andamio multiprotéico específico de la meiosis que enlaza los cromosomas homólogos de extremo a extremo durante la PMI y es necesario para la formación de entrecruzamientos meióticos (Cahoon y Hawley, 2016). El CS conserva una estructura muy general a lo largo de la evolución. Está formado por tres elementos multiprotéicos paralelos; dos elementos laterales (EL) y una región central (RC) (Kouznetsova et al., 2011).

Los dos elementos laterales en los mamíferos están compuestos principalmente por la proteína 2 del complejo sinaptonémico (SYCP2 por sus siglas en inglés), por la proteína 3 del complejo sinaptonémico (SYCP3 por sus siglas en inglés) y por asas de DNA en la parte externa de los elementos laterales (Schemkel y Daneholt, 1995; Solari, 1999).

La región central del CS es atravesada por los filamentos transversos (FT) constituidos por la proteína 1 del complejo sinaptonémico (SYCP1 por sus siglas en inglés) los cuales se ha sugerido corresponden a una estructura formada por dos  $\alpha$ -hélices entrelazadas y estas dos fibrillas se asocian con otro material de tipo globular (Solari, 1999; Page y Hawley, 2004) (Figura 1.4). Otras proteínas constitutivas de la RC son: SYCE1, SYCE2, SYCE3, TEX12 y C14ORF39/SIX60S1 (Fraune *et al*, 2012; Gómez *et al*, 2016).

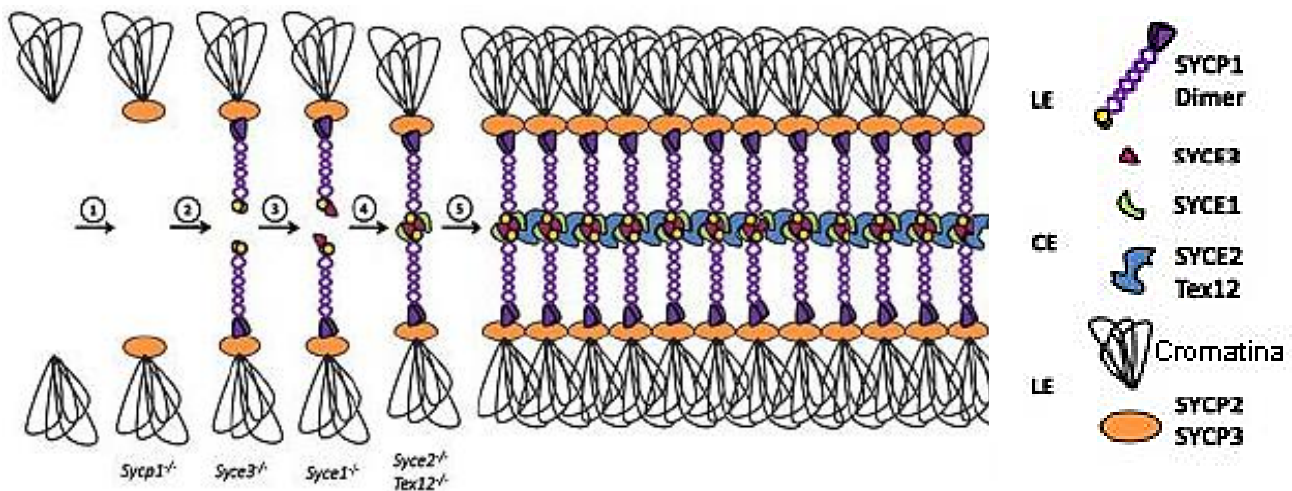


Figura 1.4. Modelo del ensamblaje del complejo sinaptonémico en la profase meiótica I analizado con inmunocitoquímica y microscopía electrónica (Fraune *et al.*, 2012).

### SYCP3 en la profase meiótica I

Las inmunolocalizaciones contra la SYCP3 se usa para definir las etapas de la PMI, su patrón de fluorescencia permite apreciar la formación de los ELs y el avance del ensamblaje del CS (Trifonova y Moens, 2009; Fraune *et al.*, 2012). SYCP3 tiene un pH básico (pH 9.4) y una masa molecular reportada de 29.7 kDa para el caso de la rata, aunque presenta isoformas observadas de 30 y 33 kDa (Lammer *et al.*, 1994; Yuan *et al.*, 1998; Zickler y Kleckner,



1999; Syrjänen et al., 2014). SYCP3 forma filamentos de diferente grosor dentro del núcleo de acuerdo a la etapa de la profase meiótica I por la que transitan los espermatoцитos primarios (Lammers, 1994; Cohen y Pollard, 2001; Baarends y Grootegoed 2003).

La SYCP3 cuando se localiza por medio de inmunodetecciones a nivel óptico se visualiza de la siguiente forma en las etapas generales de la PMI:

### **Leptoteno**

Durante el leptoteno, SYCP3 se observa como segmentos lineales discontinuos bien distribuidos en el núcleo y, en esta etapa se conocen como elementos axiales (EA). Estos EA se ensamblan a lo largo de cada eje cromosómico, conformado por los complejos de cohesinas. A medida que la célula avanza en el estadio, los EA se hacen continuos por lo que el interior del núcleo se observa con una apariencia de malla filamentosa (Heyting et al., 1988; Zickler y Kleckner, 1999).

### **Cigoteno**

Durante el cigoteno, los EA son continuos y se observan como filamentos bien definidos. En ciertas regiones de los EA, se empieza a incorporar SYCP1, por lo que se inicia la sinapsis entre los cromosomas homólogos. En estas regiones de sinapsis, los EA se compactan aún más y la detección de SYCP3 se observa más densa. Debido a estos cambios estructurales y a la aparición de una estructura que produce la sinapsis entre los EA, estos son llamados elementos laterales (EL) (Offenberg et al., 1991; Zickler y Kleckner, 1999).

## Paquiteno

En paquiteno, el CS se ha terminado de ensamblar por lo que SYCP3, SYCP2 y SYCP1 forman parte de la estructura tripartita característica. Los cromosomas homólogos están conectados (sinapsis) por el CS a lo largo de toda su longitud (Offenberg et al., 1991).

## Diploteno

El CS se desmonta durante el diploteno y los quiasmas aparecen como conexiones físicas entre los cromosomas homólogos, estos últimos son sitios donde ocurrieron los entrecruzamientos (Smith y Benavente, 1992; Liu et al, 1996).

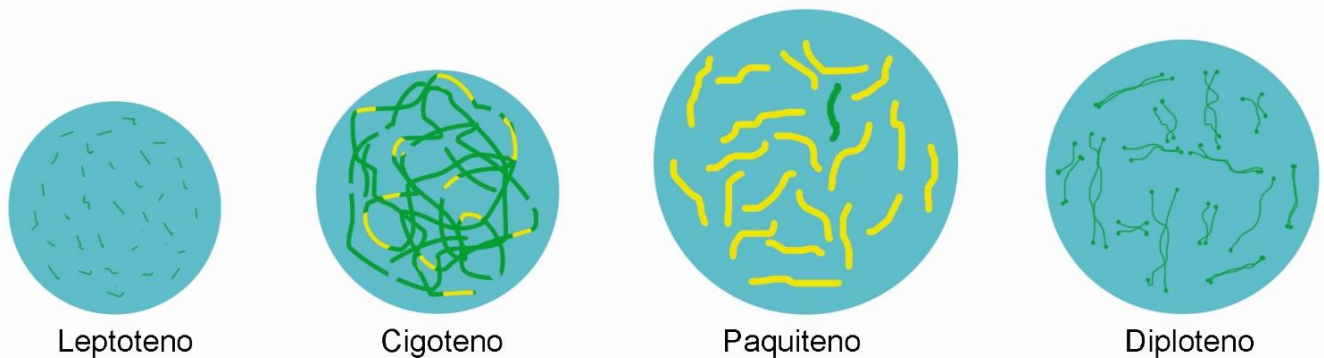


Figura 1.4 SYCP3 en las etapas de la profase meiótica I (Tomado y modificado Kuznetsova, 2004) Verde SYCP3, amarillo SYCP3 + SYCP1, azul núcleo.

El ensamblado y desensamblado del CS se correlaciona con reordenamientos sucesivos de la cromatina (Heyting et al., 1988). Todos los componentes identificados del CS ocurren específicamente en núcleos de células de la PMI, es decir, espermatoцитos y ovocitos primarios (Pousette et al., 1997 y Dietrich et al., 1992). En el caso de las hembras

durante el diploteno hay un arresto del ciclo celular también conocido como estado dictiado o dictioteno (Handel y Schimenti, 2010).

### **Particularidades de SYCP3**

- **Mutaciones en la secuencia de SYCP3**

Estudios funcionales usando el modelo murino con delección del gen de SYCP3 (SYCP3-KO) han demostrado que existen alteraciones del CS. Para organismos machos, los túbulos seminíferos de los mutantes homocigóticos KO de SYCP3, presentan una detención meiótica. Los espermátocitos mutantes carecen de EA y Els, la recombinación es fallida y hay ausencia de espermátidas redondas, espermátidas alargadas y espermatozoides, junto con la muerte celular masiva durante la profase meiótica. Mientras que, en organismos hembras, las mutaciones para el caso de los ovocitos son menos dramáticas, los cromosomas muestran cierto grado de sinapsis mediante el ensamblaje de estructuras semejantes a la CR que pueden soportar la recombinación (Yuan et al., 2000; Liebe et al., 2004; Yang et al., 2006).

- **Policomplejos**

Se han observado agregados de material similar al CS, en su mayoría llamados policomplejos (PC), en células meióticas de más de 70 organismos entre animales, plantas, hongos y protistas. Tales estructuras tienen una morfología que incluye los ELs , la RC y una composición bioquímica bien definida ya que presentan SYCP3 y en algunas ocasiones SYCP1 como la que se encuentra en los CS (Rasmussen, 1975). Los PC están altamente conservados a lo largo de la evolución. La presencia de PC está restringida a las células meióticas y a las células de la línea germinal que se derivan de los espermátocitos. Los PC están comúnmente presentes durante la PMI, aunque se ha descrito su presencia antes del

leptoteno y en algunas especies permanecen hasta la metafase I (Moens, 1969; Solari y Vilar, 1978). Los PC se pueden diferenciar de un CS típico debido a que según el organismo su localización puede ser tanto intranuclear como extranuclear, es decir, en el citoplasma (Goldstein, 1987).

La aparición de PC durante la meiosis también podría entenderse como una aberración del aumento en la síntesis de proteínas meióticas específicas, es decir, se entiende como un componente constitutivo mutante (Klapholtz *et al.*, 1985). Alternativamente, podrían ser explicados como una inusual asociación de fragmentos de CS dispersos de los cromosomas homólogos. Dentro de las interrogantes en torno a los PC se ha cuestionado si su distribución o localización es aleatoria; sus dimensiones, las cuales comparte o son semejantes a las de las regiones que componen al CS y sus posibles funciones. No se ha llegado a un acuerdo debido a la diversidad de organismos donde se observan los PC. Otros nombres con los que se le conoce a los PC son complejos extra, complejos múltiples, complejos granulares cilíndricos, complejos helicoidales, entre otros. (Sotelo *et al.*, 1973; Goldstein y Triantaphyllou, 1978; Solari y Vilar, 1978; Kehlhoffner y Dietrich, 1983),

- **Cúmulos perinucleares de SYCP3**

Al analizar preparaciones de testículos de rata prepúber con técnicas de inmunohistoquímica, se han encontrado marcas de SYCP3 que no están incorporadas al CS en los espermatoцитos de la PMI. Se puede observar el patrón de fluorescencia característico para la SYCP3, así como una distribución distinta a la que se presenta en los organismos adultos. Esta distribución distintiva en los organismos prepúberes se localiza en los bordes de los límites nucleares de los espermatoцитos primarios. A estos agregados proteicos que se evidencian

con técnicas de inmunodetección se les denominó cúmulos perinucleares de SYCP3 (CPN-SYCP3). Se ha descrito que, a los 16 días de edad, en la etapa de cigoteno se presentan con mayor frecuencia. Y hasta el momento en la rata Wistar no se ha observado su presencia en organismos adultos (Valenzuela, 2017).

### **Justificación**

Investigaciones realizadas en nuestro grupo de trabajo demuestran que los espermatoцитos primarios de ratas prepúberes contienen a la proteína SYCP3 en los elementos laterales, así como en cúmulos perinucleares durante la primera onda espermatogénica (Valenzuela, 2017). Estudios realizados por otros investigadores mencionan la presencia de dichas acumulaciones en células germinales femeninas humanas y porcinas (Roig *et al.*, 2004; Dyce *et al.*, 2006), así como en espermatoцитos de bovinos (Pfeifer *et al.*, 2001) sin que hasta el momento se haya detallado la presencia y dinámica de los cúmulos durante la PMI, así como las causas por las cuales estos cúmulos se presentan.

En este estudio se plantea determinar la etapa en la que aparecen, el estadio en la que ya no están presentes y se definir a qué edad son más abundantes en la primera onda espermatogénica, analizando las edades en las que se pueden evaluar la predominancia de un estadio de la PMI. Pensamos que estos resultados serán la base para entender la fisiología de los cúmulos perinucleares de la SYCP3 en la profase meiótica I en ratas pre-púberes durante la primera onda espermatogénica.

## **Hipótesis**

Los cúmulos perinucleares de SYCP3 se encuentran relacionados con las etapas de la profase meiótica I durante la primera onda espermatogénica, y su presencia es una característica exclusiva de ratas prepúberes.

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

Describir la relación de los cúmulos perinucleares de SYCP3 (CPN-SYCP3) con las etapas de la profase meiótica I (PMI) durante la primera onda espermatogénica

### **Objetivos particulares**

- Describir las características morfológicas de los cúmulos perinucleares de SYCP3 que no se encuentran incorporados a los elementos laterales del complejo sinaptonémico en los espermatoцитos primarios de ratas prepúberes a los 13, 16, 20 y 27 días de edad.
- Precisar la frecuencia de los cúmulos perinucleares de SYCP3 a los 13, 16, 20 y 27 días y establecer la edad donde se presentan con mayor abundancia.
- Determinar la etapa de la profase meiótica I en la cual aparecen las acumulaciones de SYCP3, así como las etapas celulares en donde se aprecian mayoritariamente.

### **Sujetos de estudio**

Los sujetos experimentales para este estudio fueron ratas machos de la cepa Wistar (*Rattus norvegicus*). Las edades se seleccionaron de acuerdo a la literatura, que presenta el siguiente orden de aparición de etapas celulares de la meiosis en la primera onda espermatogénica

(Adler, 1996). Como grupo control se seleccionaron ratas adultas que presentan todas las etapas celulares de la espermatogénesis.

Tabla 1. Edades para la selección de los sujetos de estudio de acuerdo a las etapas celulares que se presentan durante la primera onda espermatogénica (Adler, 1996).

Edad	Etapas celulares
13 días	Leptoteno
16 días	Cigoteno
20 días	Paquiteno
27 días	Diploteno
90 días	Adulto, se encuentran todas las etapas

## Material y métodos

### Obtención del material biológico

Se anestesiaron por inhalación de isoflurano (Sofloran Vet PiSA Agropecuaria Reg S.A.G.A.R.P.A. Q-78833-222) tres organismos por edad. En una cámara de eutanasia, una vez anestesiados se extrajeron los testículos, a los que se les retiró la túnica albugínea. El testículo izquierdo se empleó para realizar dispersiones de acuerdo al protocolo Peters et al (1997). Los sujetos de estudio se manipularon siguiendo los lineamientos bioéticos de acuerdo con la norma oficial mexicana NOM 062-ZOO-1999.

#### Elaboración de dispersiones

Se incubaron fragmentos de testículos de aproximadamente 1 mm<sup>3</sup>, en 500 µL de una solución hipotónica con 150 µL de Tris 1 M pH 8.2, 250 µL de sacarosa 1 M, 8 µL de citrato de sodio 1 M y 50 µL de EDTA, al momento de usarse se agregaron 25 µL de DTT y 12.5 µL de PMSF, durante 60 minutos a temperatura ambiente.

Transcurrido este tiempo las muestras se colocaron en 40 µL de sacarosa 100 mM para posteriormente dispersar las células germinales en portaobjetos preparados previamente con poli-l-lisina. Las dispersiones se fijaron en paraformaldehído al 1 % y se agregaron 1.5 ml de una solución de Tritón X100 al 10% + Borato de sodio al 0.2%, y se almacenaron a -70° C hasta el momento de su uso.

#### Elaboración de inmunodetecciones

A las dispersiones se les realizaron inmunolocalizaciones dobles de acuerdo al protocolo (Hernández-Hernández et al., 2016) para detectar de las proteínas SYCP3 y SYCP1. Se empleó el anticuerpo monoclonal anti-SYCP3 desarrollado en ratón (Abcam) Cat: ab97672 y lote: GR149989, en una concentración 1:100. y un anticuerpo policlonal SYCP1 hecho en conejo (Affinity BioReagents) Cat. PA1-46254 y lote A3 empleando una concentración de 1:100. Los anticuerpos secundarios empleados fueron el Alexa Goat Anti Mouse IgG acoplado con FITC Cat, A-11029 lote.40339 y un Alexa Goat Anti Rabbit acoplado con RT Cat. A11037 lote.1363574 en una concentración de 1:200. Posteriormente se localizó el DNA con DAPI, se agregó Vectashield (Vector, No. Catalogo C0563, Lote 122139) y se sellaron con el cubreobjetos y barniz.



## Observación

Se observaron las preparaciones y se recorrieron en su totalidad realizando un registro fotográfico de los espermatoцитos primarios presentes, este registro se realizó tomando en cuenta la etapa de la profase meiótica I con base en el diagrama propuesto por Kuznetsova, (2004). Las observaciones se realizaron en un microscopio de epifluorescencia Nikon modelo Eclipse E600, con filtros para DAPI, FITC y RT (ver tabla 2). Se usó la cámara digital DXM120F y el software NIKON ACT-1. Por cada edad se realizaron planchas con las imágenes más representativas de las células que presentaban los CPN-SYCP3, haciendo superposiciones de imágenes de los filtros (ver tabla 2) para cada etapa de la PMI que se encontraba en cada edad estudiada.

Tabla 2. Características de filtros de microscopio de epifluorescencia

Filtro	EX	DM	BA	Color
UV-2E/C DAPI	330-380	400	435-485	Azul
B-2E/C FITC	465-495	505	515-555	Verde
Y-2E/C TX RED	540-580	595	600-660	Rojo

## Conteo celular

El conteo se realizó observando la presencia–ausencia de CPN-SYCP3, se usó el programa ImageJ para marcar cada célula. Se aplicó estadística descriptiva (promedio y desviación estándar) y se obtuvieron los porcentajes de las tres preparaciones analizadas por cada edad usando la siguiente fórmula.

$$\frac{(\text{N}^\circ \text{ de células con CPN-SYCP3}) (100)}{\text{N}^\circ \text{ total de células por cada estadio}}$$

## Resultados

### Adulto

Con la finalidad de comprobar que los CPN-SYCP3 son una característica exclusiva de los organismos prepúberes, se empleó un grupo de organismos adultos como grupo control, mismo que permitió corroborar la morfología característica de cada etapa celular de la PMI de las ratas adultas y compararlas con las ratas prepuberes. Se censaron todas las etapas de la PMI en los organismos adultos en las que SYCP3 (verde) muestra la morfología filamentosa característica de cada etapa. Complementariamente, la inmunodetección para la SYCP1 (Rojo) muestra que su incorporación coincide con SYCP3 en las etapas de cigoteno, paquiteno y diploteno. (Figura 8.1)

De las preparaciones analizadas por cada rata adulta únicamente se encontraron cinco células con CPN-SYCP3 las cuales se encontraron en etapa de paquiteno. Los CPN-SYCP3 se mostraron como agregados filamentosos que no estuvieron asociados al CS (figura 8.2).

La observación de las células en PMI en los organismos prepúberes mostró que el ensamblado del CS se presenta con las características típicas para cada uno de los estadios. Con relación a los CPN-SYCP3, fue posible determinar sus cualidades morfológicas, su distribución espacial dentro del área nuclear, además de precisar su presencia para cada una de las etapas de la PMI durante la primera onda espermatogénica.

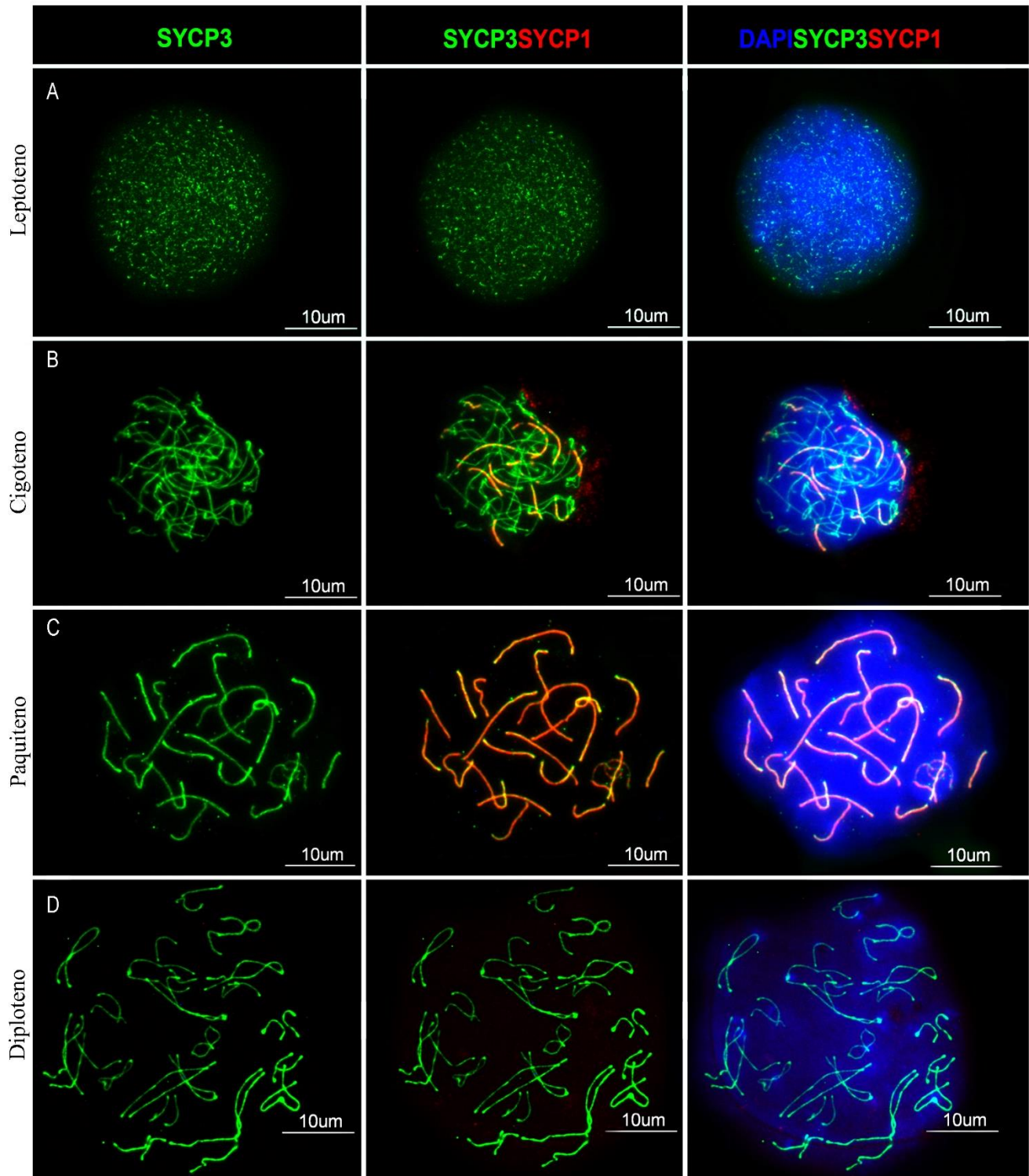


Figura 8.1. Doble inmunolocalización de SYCP3 (verde), SYCP1 (rojo) y DAPI (azul) en dispersiones de células germinales en profase meiótica I de tubulos seminíferos de rata adulta.

A) Célula en etapa de cigoteno. B) Célula en etapa de cigoteno  
 C) célula en etapa de paquiteno. D) célula en etapa de diploteno.  
 Barra 10µm

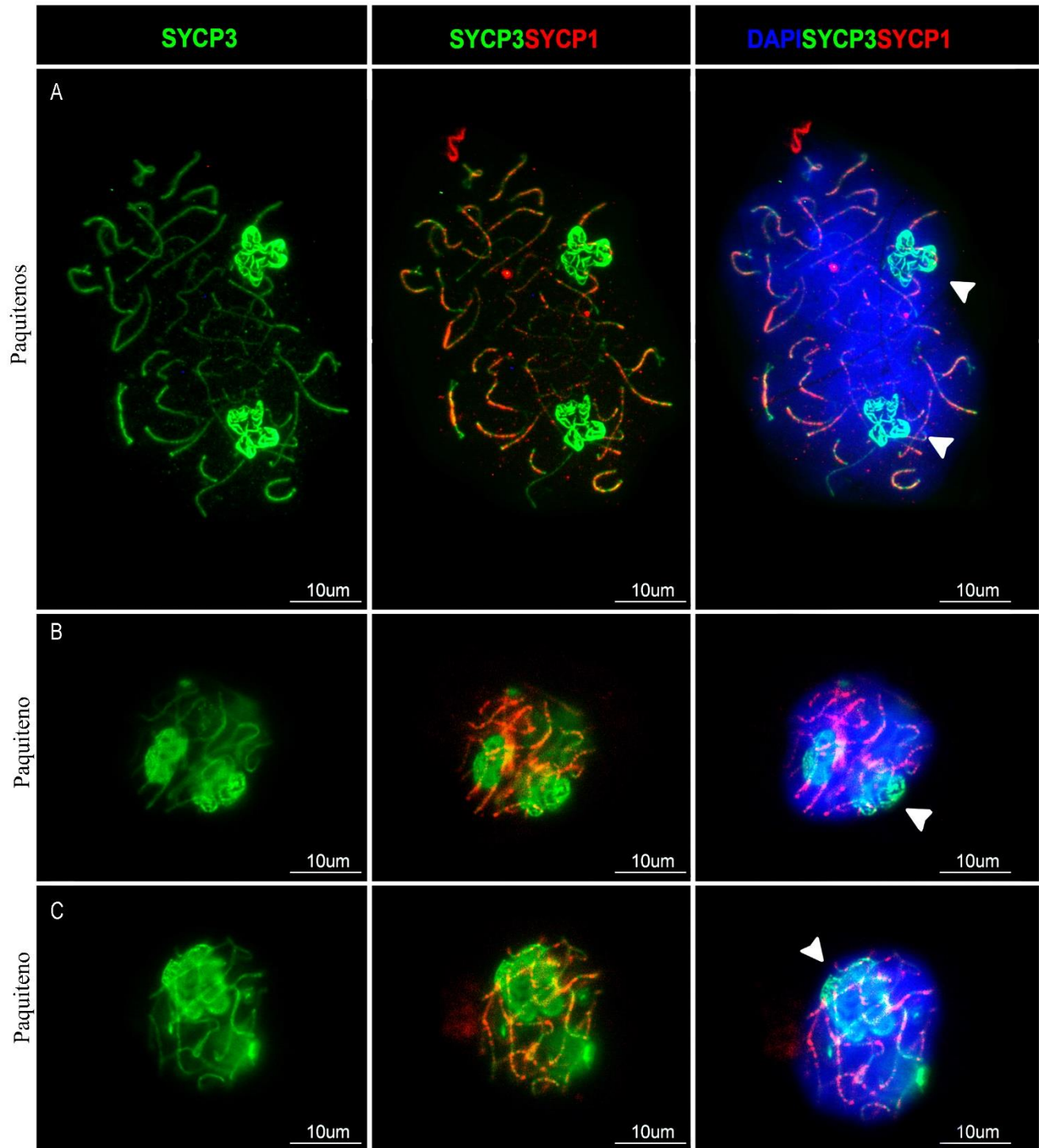


Figura 8.2. Doble inmunolocalización de SYCP3 (verde), SYCP1 (rojo) y DAPI (azul) en dispersiones de células germinales en profase meiótica I de túbulos seminíferos de rata adulta.

A) Células en etapa de paquiteno B) Célula en etapa de paquiteno.  
 C) célula en etapa de paquiteno. Se evidencian los CPN-SYCP3 (cabeza de flecha) en la sobreposición de las imágenes. Barra 10µm

13 días

A los 13 días observamos dos estadios de la PMI: espermatocitos en etapa de leptoteno y cigoteno. Los espermatocitos primarios a esta edad muestran la presencia de CPN-SYCP3, no todas las células los tienen (más adelante se presentan los porcentajes).

En la etapa de leptoteno el marcaje de los CPN-SYCP3 no es tan nítido como en los elementos axiales en los que ha comenzado a incorporar la SYCP3, la presencia de SYCP1 aún no se observa debido a que el proceso de sinapsis entre los cromosomas homólogos aún no se establece.

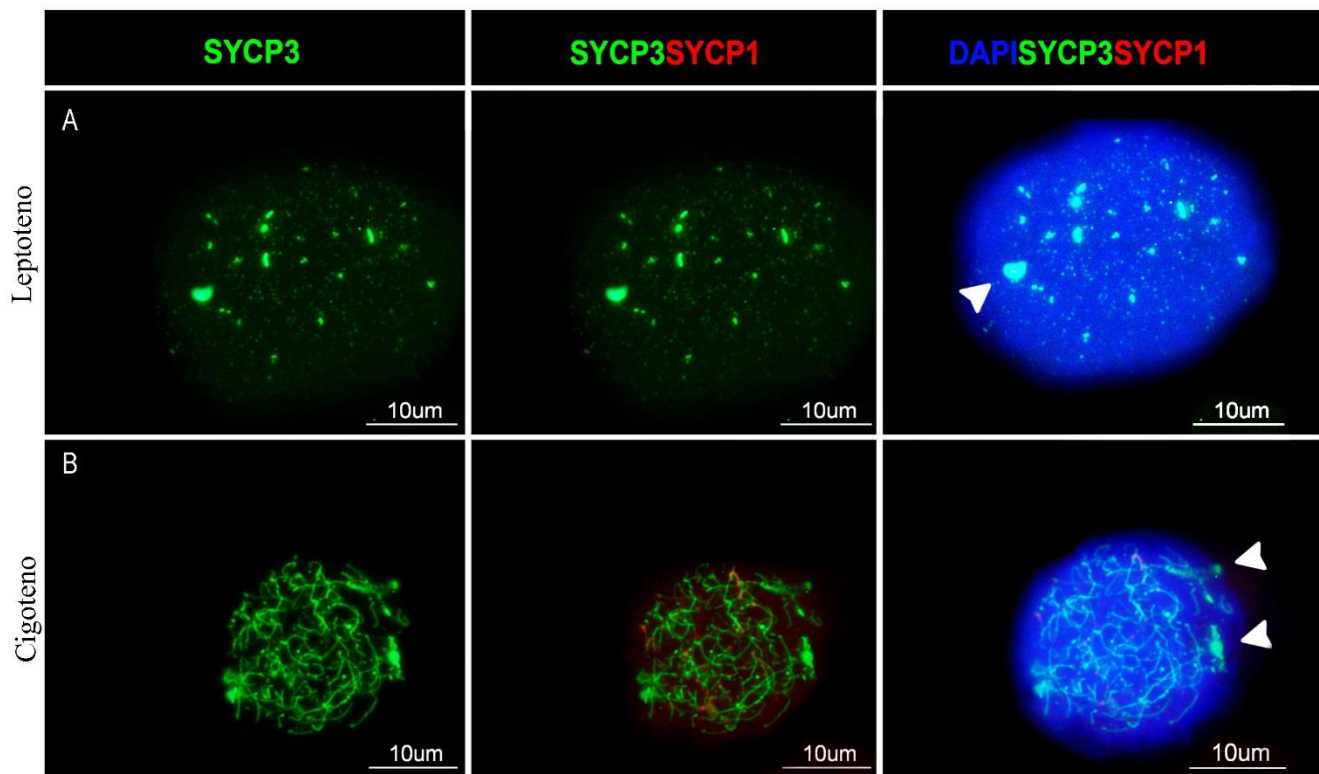


Figura 8.3. Doble inmunolocalización de SYCP3 (verde), SYCP1 (rojo) y DAPI (azul) en dispersiones de células germinales en profase meiótica I de cordones seminíferos de rata de 13 días de edad.

A) Célula en etapa de leptoteno. B) Célula en etapa de cigoteno.

Se evidencian los CPN-SYCP3 (cabeza de flecha) en la sobreposición de las imágenes. Barra 10µm

En los espermatoцитos en cigoteno, los elementos laterales demostrados con la detección de SYCP3 comienzan a mostrar la colocalización con la proteína SYCP1 en segmentos pequeños indicando que se ha iniciado el proceso de sinapsis. (Figura 8.3).

A los trece días no vemos una abundante población celular pero los porcentajes muestran mayor número de células con presencia de CPN-SYCP3 en la etapa de leptoteno obteniendo un valor de 11.7 %. El 88.3 % de las células en leptoteno no presentan CPN-SYCP3 También se obtuvo la presencia de células en cigoteno con marcas de CPN-SYCP3 con un valor de 11 %. El 89 % de las células en cigoteno no presentan CPN-SYCP3 No se encontraron células en paquiteno y diploteno (Figura 8.4).

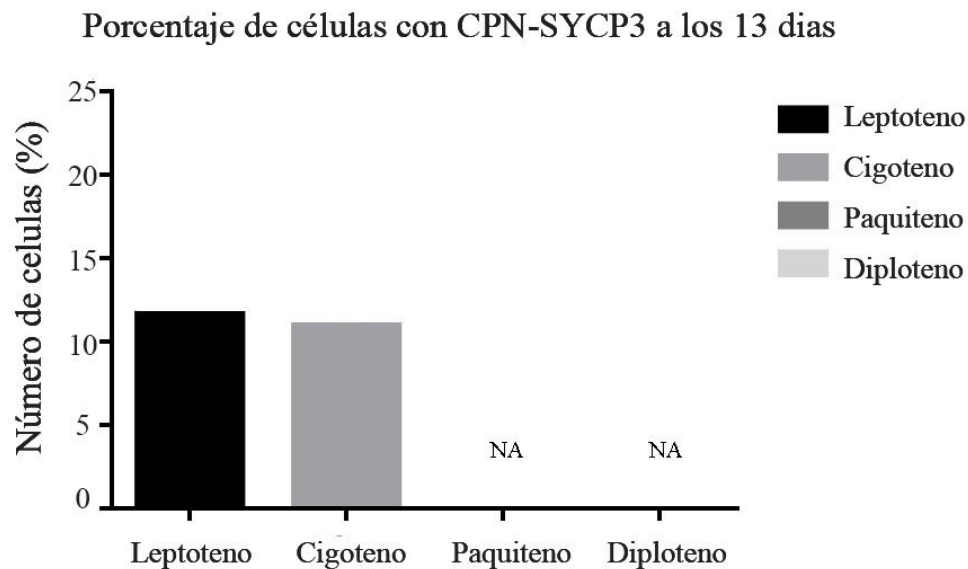


Figura 8.4. Conteo de la población de células en la PMI a los 13 días de edad

16 días

A los 16 días encontramos tres tipos celulares; leptoteno, cigoteno y por primera vez paquitenos. Los espermatoцитos primarios en las etapas de leptoteno y cigoteno continúan mostrando CPN-SYCP3 con la morfología y distribución observadas a los 13 días. Los espermatoцитos en la etapa de paquitenos presentaron la localización de la SYCP3 y la SYCP1 (amarillo) a todo lo largo de los cromosomas. Esta colocalización fue resultado de la señal de la SYCP3 en verde y la marca roja de la SYCP1. En esta etapa también se encontraron CPN-SYCP3 que se visualizan como “motas” por toda el área nuclear (Figura 8.5).

A los 16 días la población celular es más abundante con respecto a la edad anterior. De la cuantificación de las células con CPN-SYCP3 encontramos que el 14.3 % de las células en leptoteno presentan CPN-SYCP3, el 85.7 % no presenta CPN-SYCP3. El 16.7 % de las células que se encuentran en la etapa de cigoteno presentaron CPN-SYCP3 mientras que el 83.3 % tenía la distribución característica y el 29 % de las que estaban en paquitenos presentaron CPN-SYCP3 y el 71 % en esta etapa no presentó CPN-SYCP3. A esta edad aún no hay espermatoцитos en la etapa de diploteno (Figura 8.6).

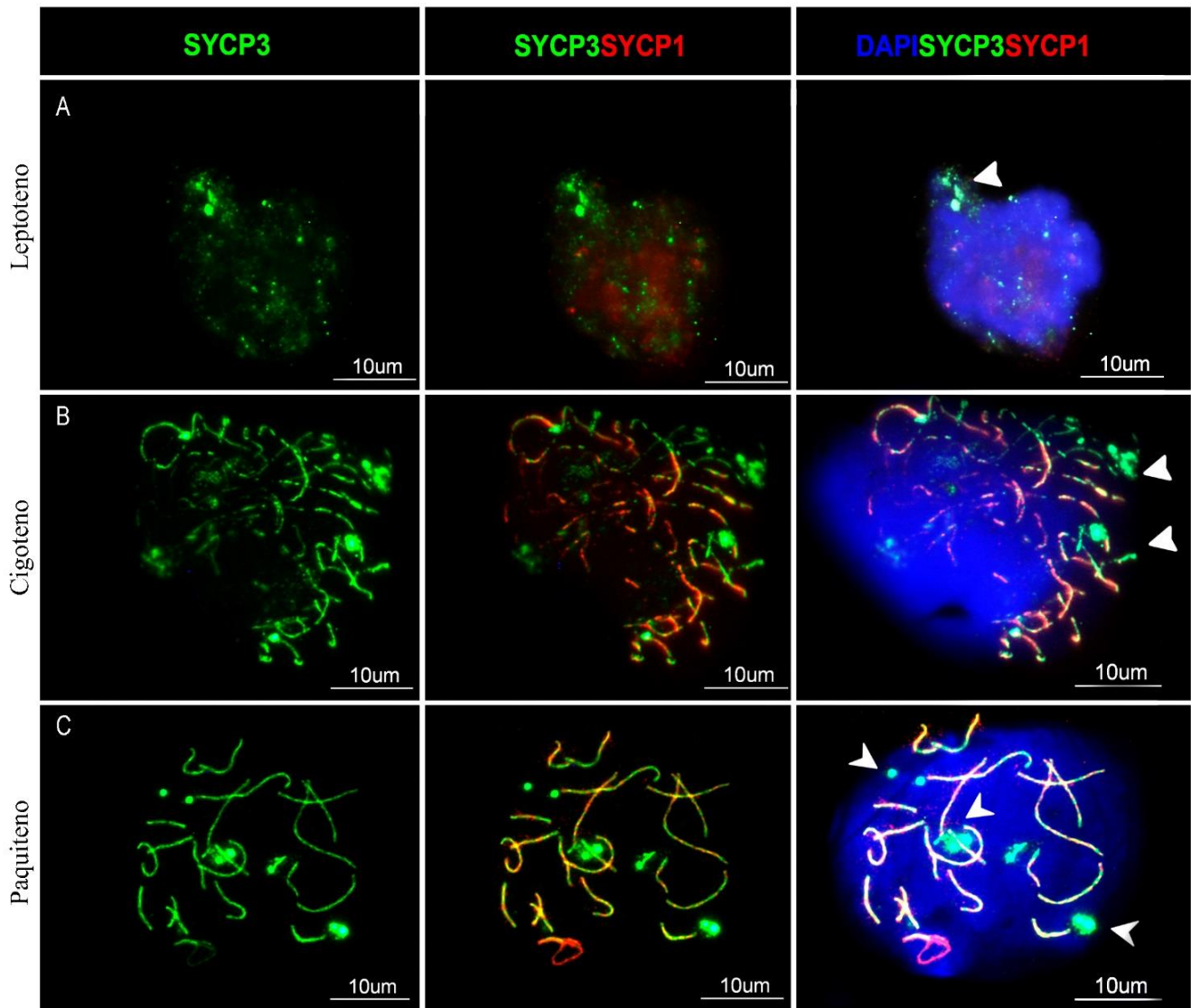


Figura 8.5. Doble inmunolocalización de SYCP3 (verde), SYCP1 (rojo) y DAPI (azul) en dispersiones de células germinales en profase meiótica I de cordones seminíferos de rata de 16 días de edad.

A) Célula en etapa de leptoteno. B) Célula en etapa de cigoteno. C) Célula en etapa de paquiteno. Se evidencian los CPN-SYCP3 (cabeza de flecha) en la sobreposición de las imágenes. Barra 10 µm



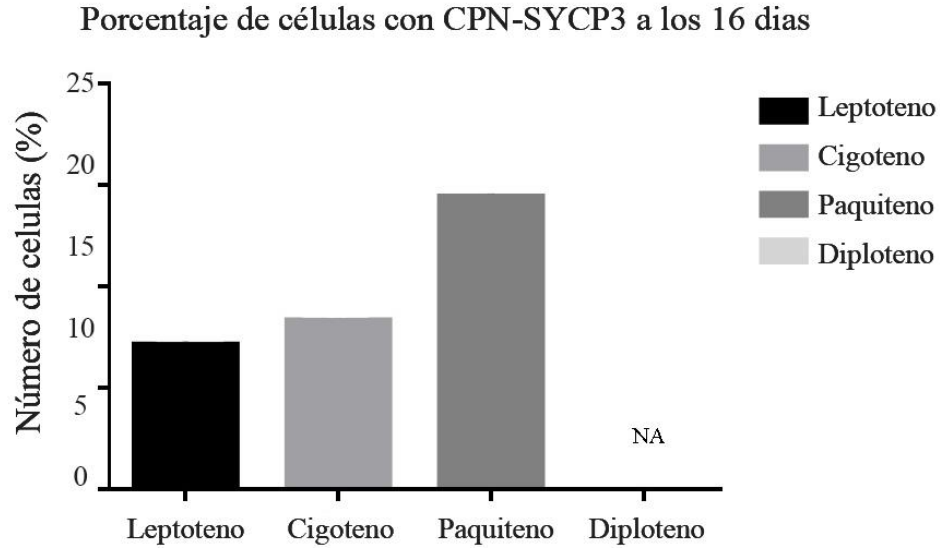


Figura 8.6. Conteo de la población de células en la PMI a los 16 días de edad

20 días

A los 20 días de edad encontramos predominantemente paquitenos que pertenecen a la primera onda espermatogénica. También se observaron espermatoцитos en leptoteno y cigoteno donde continúan presentes con las acumulaciones de SYCP3. En los espermatoцитos en paquiteno encontramos una mayor diversidad de la morfología de estos CPN-SYCP3. La distribución de los CPN-SYCP3 fue aleatoria y en algunas ocasiones asumió un arreglo filamentoso sin que existiera la presencia de SYCP1. Es importante puntualizar que los espermatoцитos primario en estadios previos al paquiteno presentes a los 20 días de edad ya no pertenecen a la cohorte de espermatoцитos primarios de la primera onda espermatogénica (Figura 8.7).

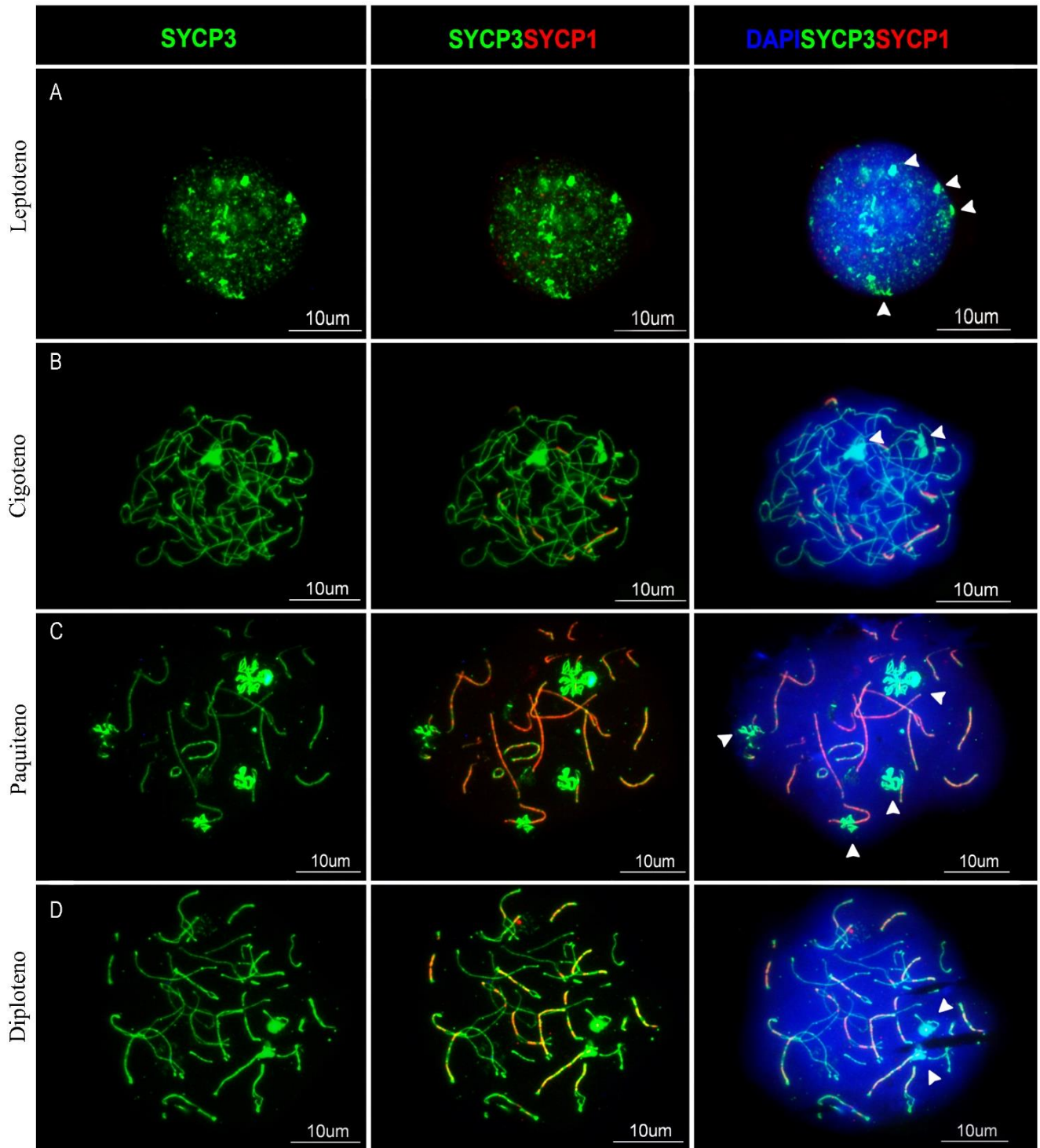


Figura 8.7. Doble inmunolocalización de SYCP3 (verde), SYCP1 (rojo) y DAPI (azul) en dispersiones de células germinales en profase meiótica I de cordones seminíferos de rata de 20 días de edad.

A) Célula en etapa de leptoteno. B) Célula en etapa de cigoteno.

C) célula en etapa de paquiteno. D) célula en etapa de diploteno.

Se evidencian los CPN-SYCP3 (cabeza de flecha) en la sobreposición de las imágenes. Barra 10µm

A los 20 días 10.3 % de los espermatocitos en leptoteno presentan CPN-SYCP3 el resto, 89.7 % no presenta acumulaciones de la proteína SYCP3. El 8.2 % de los espermatocitos en la etapa de cigoteno tienen CPN-SYCP3, el 91.8 % de las células en esta etapa no presenta CPN-SYCP3. Los paquiteno mostraron en un 18 % la presencia de CPN-SYCP3, 82 % no presentaron CPN-SYCP3. Finalmente, se observan diplotenos por primera vez y el 23.2% presentan CPN-SYCP3 mientras que el 76.8 % presentó las características de las células en PMI descritas en el adulto (Figura 8.8).

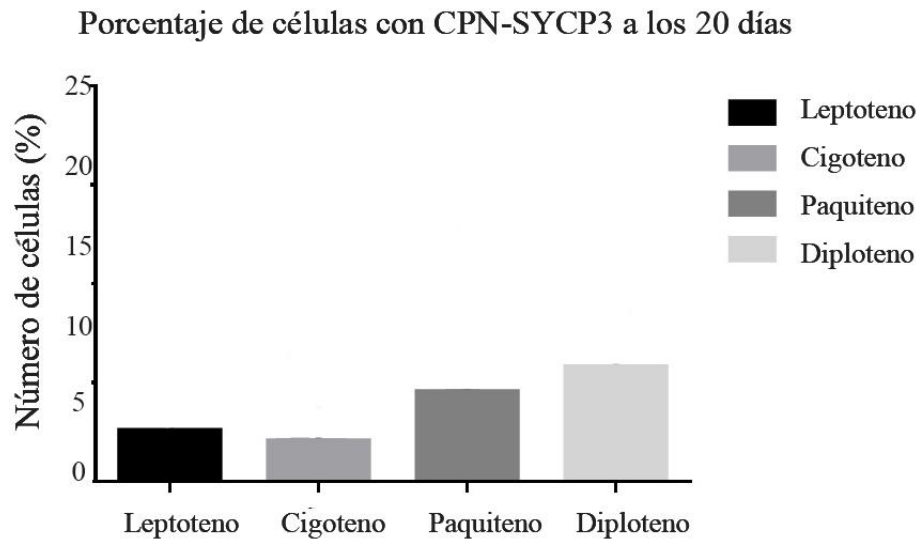


Figura 8.8. Conteo de la población de células en la PMI a los 20 días de edad

27 días

De los tipos celulares que se encuentran en esta edad solo los paquitenos y diplotenos pertenecen a la primera onda espermatogénica. Las células en paquiteno muestran los CPN-SYCP3 con las mismas características descritas en la edad de 20 días. En el diploteno el CS se ha desensamblado y muestra pequeñas porciones de SYCP1. Se observa el cuerpo XY

tanto en paquiteno como en diploteno (flecha) También se encontró el estadio de leptoteno, pero ya no corresponde a la primera onda espermiática, aunque continua continúan mostrando CPN-SYCP3 (Figura 8.9)

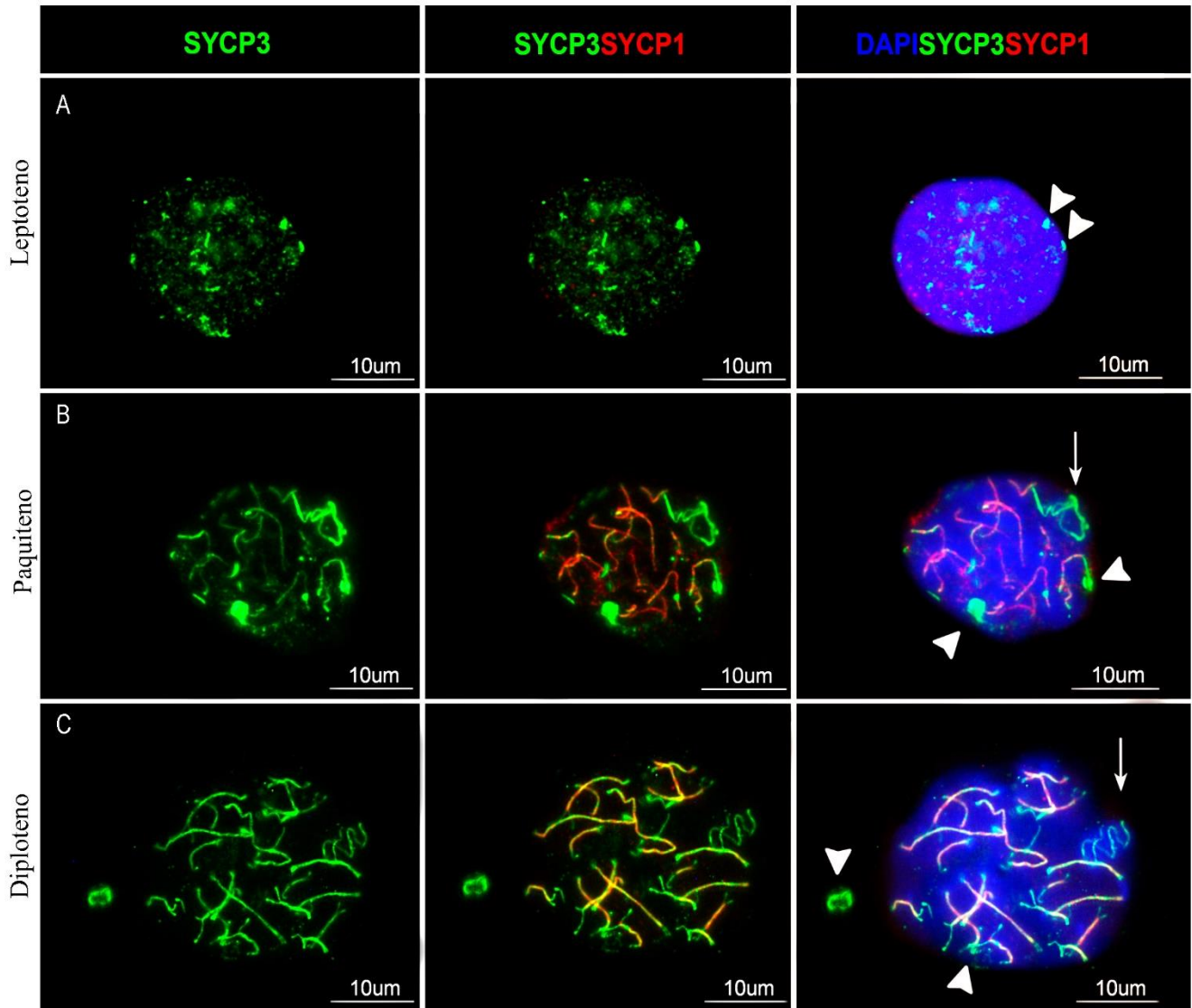


Figura 8.9. Doble inmunolocalización de SYCP3 (verde), SYCP1 (rojo) y DAPI (azul) en dispersiones de células germinales en profase meiótica I de cordones seminíferos de rata de 27 días de edad.

A) Célula en etapa de leptoteno. B) Célula en etapa de paquiteno. C) Célula en etapa de diploteno. Se evidencian los CPN-SYCP3 (cabeza de flecha) en la sobreposición de las imágenes, cuerpo XY (Flecha). Barra 10µm

En los porcentajes de la presencia de los CPN-SYCP3 en los espermatoцитos primarios encontramos que el 13.1 % de células en paquiteno tienen presencia de CPN-SYCP3 y el 10% de células en diploteno. Las células en etapa de leptoteno a pesar de que ya no son parte de la primera onda espermatogénica continúan presentando acumulaciones de la SYCP3 en un 16 % y no se encontraron células en cigoteno (Figura 8.10).

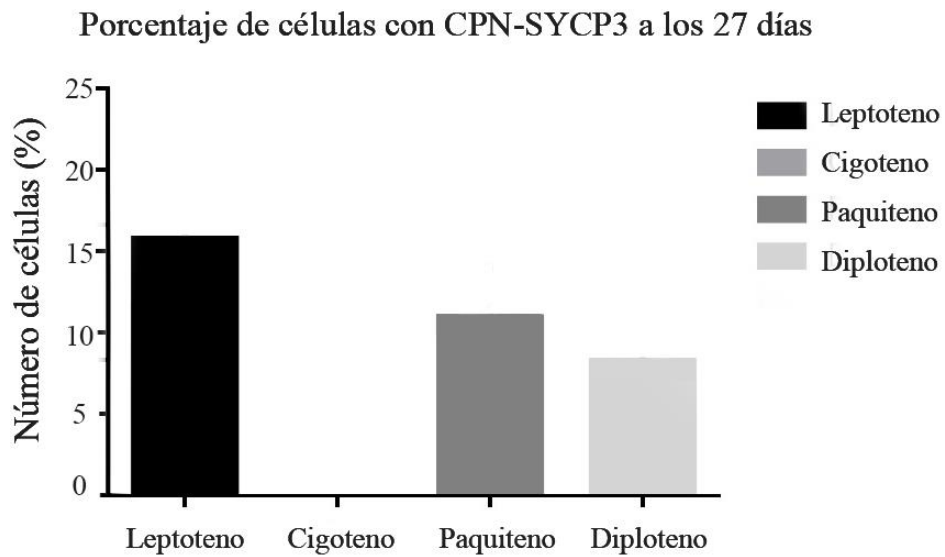


Figura 8.10. Conteo de la población de células en la PMI a los 27 días de edad

### Conteo celular en la primera onda espermatogénica

Seguindo la propuesta de aparición de las etapas celulares en la meiosis durante la primera onda espermatogénica de Adler (1996) podemos resumir que durante la primera onda espermatogénica los leptotenos presentaron 11.7% de células con CPN-SYCP3. Los cigotenos 16.7 % de presencia de CPN-SYCP3, mientras que paquitenos 18 % y diplotenos 10% de células con CPN-SYCP3. (Figura 8.12)

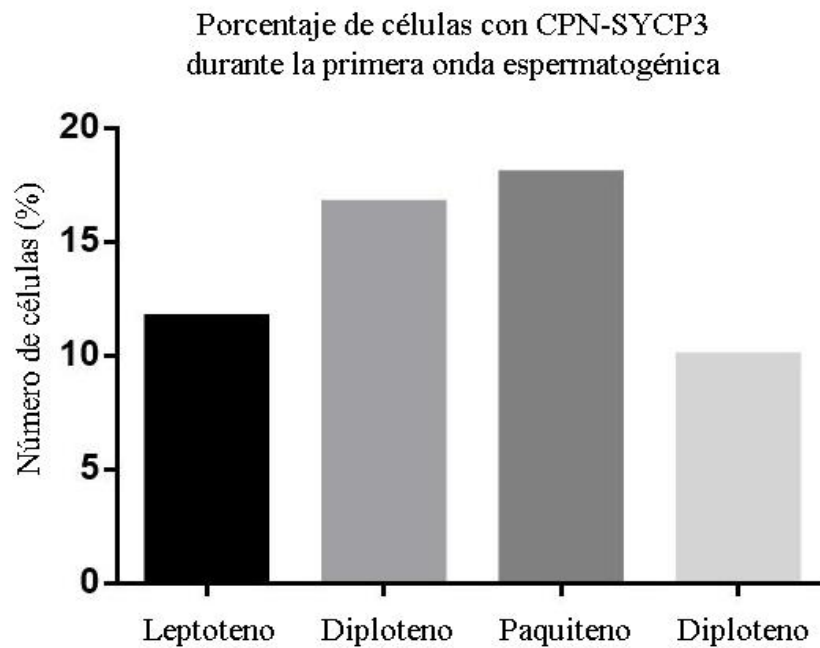


Figura 8.12. Conteo de la población de células en la PMI a los 16 días de edad

### Conteo celular total

Al realizar un conteo de todas las células que presentaron CPN-SYCP3, vemos que hay en leptoteno 36.3 % de presencia de CPN-SYCP3, el 63.4 % del total de células en cigoteno no presentó CPN-SYCP3. En cigoteno el 35.9 % del total de las células presenta CPN-SYCP3, el 64.1 % no presentó CPN-SYCP3. La etapa de paquiteno es el estadio donde se presentan un mayor número de células con CPN-SYCP3, se obtuvo 60.2 % de células con presencia de CPN-SYCP3, el 39.2 % no presentó CPN-SYCP3 y durante el diploteno el 33 % de las células presentaron CPN-SYCP3, mientras que el 67 % no presentaron CPN-SYCP3 (Figura 8.13).

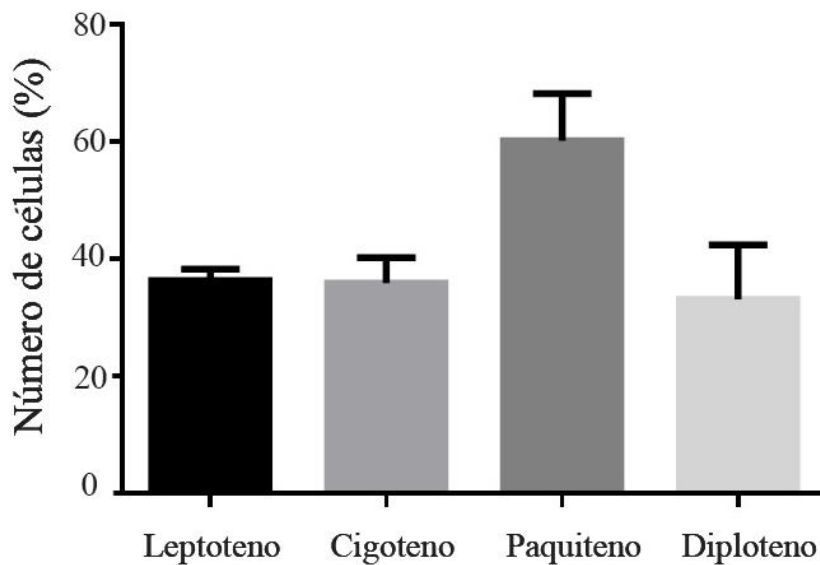


Figura 8.13. Conteo de la población de células en la PMI a los 16 días de edad

### Modelo morfológico propuesto de CPN-SYCP3

Con los resultados obtenidos de las doble inmunolocalizaciones se propone el siguiente esquema de la morfología de los CPN-SYCP3 en cada una de las etapas celulares que conforma la PMI durante la primera onda espermatogénica. En leptoteno a los 13 días se observan CPN-SYCP3 difusos. Durante la siguiente etapa, cigoteno a los 16 días los CPN-SYCP3 presentan una distribución similar en al área nuclear, pero se distinguen con mayor nitidez. A los 20 días donde la etapa que predomina es el paquiteno, los CPN-SYCP3 adquieren diversas morfologías siendo la forma filamentososa la que se observa mayoritariamente. En cuanto a su distribución no hay un único patrón, los cúmulos se pueden observar en todas las disposiciones del área nuclear, aunque también se encontró distribuida hacia la periferia del núcleo. Durante el diploteno, los CPN-SYCP3 se aprecian de distintas formas, por lo que pueden estar presentes todas las disposiciones observadas en las etapas anteriores (Figura 8.14).

### Distribución de CPN-SYCP3

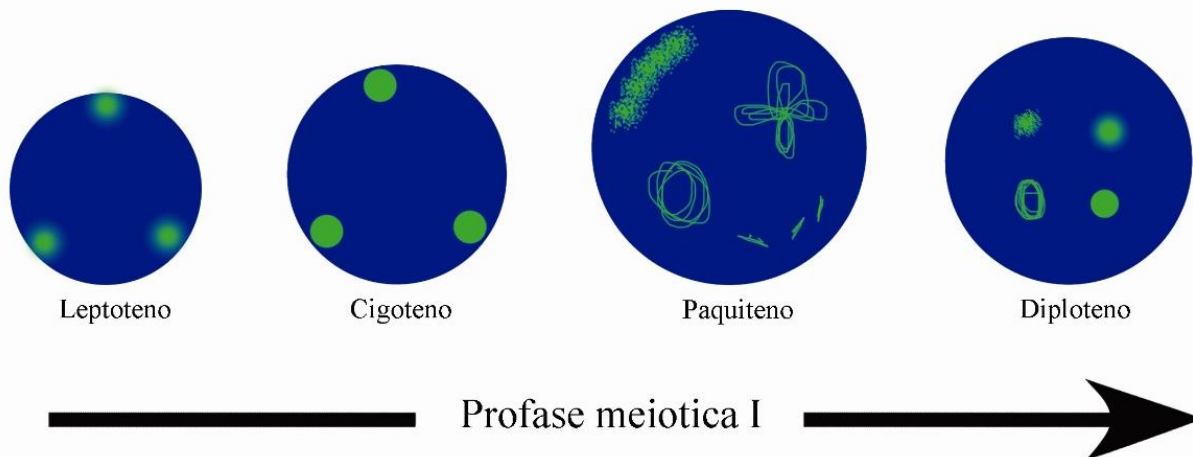


Figura 8.14. Modelo propuesto sobre la distribución y apariencia morfológica de los cúmulos perinucleares de SYCP3 (Verde) durante la primera onda espermatogénica en los cordones seminíferos de rata, en las etapas de la profase meiótica I.



## Discusión

Los resultados que se presentan en este trabajo permiten corroborar la presencia de los CPN-SYCP3 en la primera onda espermatogénica de la rata wistar prepuber. La aparición de los CPN-SYCP3 en todas las etapas de la PMI de las edades estudiadas indican que son espermátocitos primarios de la primera onda espermática (leptoteno, cigoteno, paquiteno y diploteno) y corresponden a los 13, 16, 20 y 27 días de edad (Adler, 1996). Tanto el conteo de las células como los porcentajes obtenidos nos permiten asociar la presencia de los CPN-SYCP3 con el inicio de la espermatogénesis debido a que la presencia de células con CPN-SYCP3 va disminuyendo hasta ser prácticamente nula en edades posteriores a la primera onda espermatogénica así como en organismos adultos.

A los 13 días la SYCP3 se visualiza como filamentos delgados distribuidos en el área nuclear (Yuan et al., 2000; Schramm et al., 2011). Los CPN-SYCP3 se observan por primera vez durante el leptoteno. Conforme transita la meiosis durante el cigoteno, a los 16 días de edad observamos fibras engrosadas de SYCP3 y se van incorporando las demás proteínas integrales del CS, entre ellas SYCP1, componente de la región central (Yuan et al, 2000; Qiao et al, 2012). En una investigación previa en nuestro grupo de trabajo se había señalado que los CPN-SYCP3 son más abundantes durante el cigoteno a los 16 días de edad (Valenzuela, 2017), sin embargo, en el presente estudio es a los 20 días de edad durante el paquiteno donde los CPN-SYCP3 se observan mayoritariamente; coexisten con el CS ensamblado en su totalidad y por lo tanto con la sinapsis de los cromosomas (Offenberg et al., 1991). Cabe señalar que este estudio es el primero que analiza organismos a los 20 días, misma edad donde se presentan los primeros paquitenos de la primera onda espermatogénica

(Adler, 1996). Aunado a esto se sabe que el paquiteno es la etapa más larga de la PMI lo que aumenta las posibilidades de localizar células en esta etapa y por lo tanto CPN-SYCP3.

La técnica de dispersiones es otro factor que puede contribuir a la diferencia de datos entre estudios, esta técnica permite visualizar todo el contenido del volumen nuclear a diferencia de los cortes histológicos que solo ofrecen una porción del total de la célula. Los cortes histológicos de células en PMI han demostrado los CPN-SYCP3 se visualizan adosados a la envoltura nuclear (Valenzuela, 2017), característica que comparten con los PC. En otras investigaciones con otros modelos biológicos los PC existen como cuerpos perinucleares desde preleptoteno y así permanecen hasta la primera división meiótica (Moens, 1969; Solari y Vilar, 1978). Sin embargo, en el modelo de estudio que se presenta en este trabajo los CPN-SYCP3 se acotan únicamente a la profase meiótica I. Sin embargo, se ha visto que los PC se observan desde antes del inicio de la PMI en células goniales y en momentos muy tempranos en la interfase premeiótica, este metabolismo precoz se ha reportado en modelos murinos (Day y Grell, 1976; Grell *et al.*, 1980), y perduran hasta la metafase I (Moens, 1969; Solari y Vilar, 1978) por lo que se piensa que el metabolismo de los precursores de los PC ocurre antes de la etapa de paquiteno.

Las inmunolocalizaciones contra SYCP3 Y SYCP1 evidencian que los CPN-SYCP3 solo están conformados por la SYCP3, esta característica también se comparte con la mayoría de los organismos en los que se ha descrito la presencia de PC. Hay pocos organismos donde se señala que los PC presentan una región central por lo que contienen FT que se constituyen de SYCP1, como es el caso de algunas cepas de levaduras (Rasmussen, 1975). Al estar compuestos por la SYCP3 y por la SYCP1 es la forma helicoidal, tubular o estriada la que

hace diferentes a los PC de un CS típico (Moens y Rapport, 1971; Goldstein y Triantaphyllou, 1978; Kehlhoffner y Dietrich, 1983).

Hasta el momento no existían trabajos de ratas prepúberes que describieran este fenómeno. Si bien los CPN-SYCP3 comparten algunas características propias de los PC, habría que indagar la composición, morfología y asociaciones a nivel ultraestructural de los CPN-SYCP3 para asegurar que se trata de un fenómeno parecido a los PC. Otra característica que define a los PC es que se encuentran asociados a estructuras como el nucléolo (Wettstein y Sotelo, 1965), a los poros nucleares (Fiil *et al*, 1973; Bogdanov, 1977), a cuerpos lipídicos (Fiil *et al*, 1973), a heterocromatina (La Cour y Wells, 1973), a cromosomas bivalentes (en el caso de las hembras) (Roth, 1966), cromosomas en metafase I (Moens, 1969) y a material fibrilar (Bennett *et al*, 1979).

Por otro lado, hay que tomar en cuenta que al ser organismos prepúberes los mecanismos de regulación tróficos, paracrinos y celulares para la posterior madurez de los individuos comienzan a establecerse, por lo que los CPN-SYCP3 podrían entenderse como una aberración del aumento en la síntesis de proteínas meióticas específicas (Klapholtz *et al*, 1985). Alternativamente, podrían ser explicados también como una asociación errónea de fragmentos de CS dispersos de los cromosomas homólogos. Se sabe que la SYCP3 tiene la propiedad de formar fibras puesto que, bajo condiciones experimentales esta proteína tiene la capacidad de autoensamblarse. En el sistema heterólogo de células COS7 (células somáticas que pueden albergar proteínas presentes durante la meiosis) se forman cúmulos fibrosos de la proteína similares a los observados en el presente trabajo (Alsheimer, *et al*. 2010; Fraune *et al*, 2012; Syrjänen *et al*, 2014). Esta podría ser la explicación por lo que

también se presentan de manera muy escasa, (casi nula) en organismos adultos, siendo una característica exclusiva de los machos prepúberes.

Podemos inferir que la formación del CS transcurre de manera adecuada puesto que al parecer no se ven afectados los procesos de apareamiento cromosómico, sinapsis y recombinación, aunque la formación del CS no asegura la recombinación (Stack, 1973; Rasmussen, 1977) es notoria la formación del cuerpo XY, estructura característica de la etapa del paquíteno. Se sabe que para el caso de los ratones machos la ausencia de la SYCP3 conlleva la detención de la meiosis. Los organismos carecen de EA y de EL, la condensación de cromosomas meióticos y la recombinación es fallida, al igual que la formación de quiasmas es severamente afectada (Yuan et al., 2000; Baier et al., 2007).

A los 27 días se presentan los diplotenos de la primera onda espermatogénica. La etapa de diploteno se reconoce por la disolución del CS y la unión física de entrecruzamientos denominados quiasmas (Karp et al., 2008; Liu et al, 1996). Es la última etapa celular donde se observan los agregados de la SYCP3 y una falla en la formación de entrecruzamientos puede conducir a una mala segregación cromosómica, por lo tanto, el tiempo entre la formación de un entrecruzamiento y el desmontaje del complejo sinaptonémico está altamente regulado a través de procesos que requieren las cinasas del ciclo celular conocidas, que a su vez se regulan mediante mecanismos transcripcionales y/o traduccionales (Cahoon y Hawley, 2016).

## Conclusiones

- Los CPN-SYCP3 se encuentran en todas las edades de la primera onda espermatogénica (13, 16, 20 y 27 días) y en todas las etapas de la profase meiótica I (leptoteno, cigoteno, paquiteno y diploteno) siendo una característica predominante en los organismos prepúberes.
- En la primera onda espermatogénica los CPN-SYCP3 se observan por primera vez durante el leptoteno a los 13 días y por última vez a los 27 días en la etapa de diploteno. Los CPN-SYCP3 no se observan después de la PMI
- A los 20 días encontramos mayor abundancia durante el paquiteno y es la morfología filamentosa la que se observa con mayor frecuencia.

## Perspectivas

Se necesita profundizar en las explicaciones fisiológicas de las acumulaciones proteicas de SYCP3. Saber cuál es su función, entender los mecanismos involucrados en la regulación de la incorporación de las proteínas durante el ensamblado del CS.

Al no presentarse CPN-SYCP3 como en organismos adultos en los organismos prepúberes se podrían hacer comparaciones desde distintos enfoques. Uno de ellos sería determinar si existen diferencias en la síntesis de SYCP3. Esto se podría evaluar mediante Western Blot si existe una mayor síntesis de SYCP3 en los organismos prepúberes que en los animales adultos. Si esto fuera así, entonces se puede demostrar si hay mayor transcripción por medio de PCRq. Si no hay diferencias en cuanto a la síntesis de SYCP3 habría que indagar si se trata de la deficiencia en la degradación de las proteínas que conforman el CS y que esto se la causa de la presencia de los CPN-SYCP3. Esto no descarta que puedan ser otras las causas que puedan estar relacionadas con aspectos fisiológicos e incluso evolutivos. También se debe caracterizar la ultra estructura de los CPN-SYCP3 ya que a nivel óptico muestran diversas morfologías, lo que puede sugerir que los cúmulos no muestran las características de los PC descritos en otras especies.

## Referencias

- Adler, I. D. (1996). Comparison of the duration of spermatogenesis between male rodents and humans. *Mutation Research, Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 352(1-2). 169-172. [http://doi.org/10.1016/0027-5107\(95\)00223-5](http://doi.org/10.1016/0027-5107(95)00223-5)
- Alberts, B., Johnson, A., J., Roberts, K y Walter, P. (2008). *Biología molecular de la célula*. 5° Ed. España: Omega.
- Alshmeir, M., Baier, A., Schramm, S, W., y Benavente, R. (2010). Synaptonemal complex protein SYCP3 exists in two isoform showing different conservation in mammalian evolution. *Cytogenetic and genome research*, 128(1-3), 162-168. <http://doi.org/10.1159/000303341>
- Baarends WM, Grootegoed JA. (2003). Chromatin dynamics in the male meiotic prophase I. *Cytogenet Genome Res*. 103(3-4):225-34.
- Baier, A., Alsheimer, M., & Benavente, R. (2007). Synaptonemal complex protein SYCP3: conserved polymerization properties among vertebrates. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1774(5), 595-602..
- Bennett, M. D., Smith, J. B. Simpson, S., y Wells, B. (1979). Intranuclear fibrillar material in cereal pollen mother cells. *Chromosoma* 71, 289-332.
- Bogdanov, yi. (1977) Formation of cytoplasmic synaptonemal complex like polycomplexes at leptotene and normal synaptonemal complexes at zygotene in *áscaris suum* male meiosis. *Chromosoma* 61, 1-21.
- Boron, W. F. Y Boulpape E. L. (2012). *Medical physiology* (2nd ed). EUA: Elsevier Saunders.
- Cahoon C, y Hawley R, S. (2016). Regulating the construction and demolition of the synaptonemal complex. *Nature Structural & Molecular Biology* 23, 369–377 [doi:10.1038/nsmb.3208](https://doi.org/10.1038/nsmb.3208)
- Cohen PE, Pollard JW. (2001). Regulation of meiotic recombination and prophase I progression in mammals. *Bioessays*. 23(11):996-1009.
- Colledge, W. H., Mei, H., y de Tassigny, X. D. A. (2010). Mouse models to study the central regulation of puberty. *Molecular and cellular endocrinology*, 324(1-2), 12-20.
- Day, J.W., y Grell, R.F. (1976) Synaptonemal complex during premeiotic DNA synthesis in oocytes of *Drosophilla melanogaster*. *Genetics* 83, 67-79.
- Dietrich, A.J.J., Kok, E., Offenberg, H.H., Heyting, C., De Boer, P. y Vink, A.C.G. (1992). The sequential appearance of components of the synaptonemal complex during meiosis of the female rat. *Genome* 15: 492-497.

- Fraune J, Schramm S, Alsheimer M, Benavente R. (2012). The mammalian synaptonemal complex: Protein components, assembly and role in meiotic recombination *Exp Cell Res.* 2012 Jul 15;318(12):1340-6. doi: 10.1016/
- Fiil, A. and Maens, P.B. (1973) The development, structure and function of modified synaptonemal complexes in mosquito oocytes . *Chromosoma* 41, 37-62.
- Goldstein, P. y Triantaphyllou, A.C. (1978) Occurrence of synaptonemal complexes and recombination nodules in a meiotic race of *Meloidogyne hapla* and their absence in a mitotic race. *Chromosoma* 68, 91-100.
- Goldstein, P., (1987) Multiple synaptonemal complexes (polycomplexes): origin, structure and function. *Cell Biol. Int. Rep.* 11:759–796.
- Gómez-H, L., Felipe-Medina, N., Sánchez-Martín, M., Davies, O. R., Ramos, I., García-Tuñón, I., Pendas, A.M. y Benavente, R. (2016). C14ORF39/SIX6OS1 is a constituent of the synaptonemal complex and is essential for mouse fertility. *Nature communications*, 7 (mayo), 13298. <http://doi.org/10.1038/ncomms13298>
- Grell, R.F., Oakley, E.F. y Generoso, E.F. (1980). Synaptonemal complexes at premeiotic interphase in the mouse spermatocyte. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77, 6720-6723.
- Handel. M. A. y Schimenti, J.C. (2010). Genetics of mammalian meiosis: regulation dynamics and impact on fertility. *Nature reviews. Genetics*, 11(2), 124-36. <http://doi.org/10.1038/nnrg2723>
- Harper, L., Golubovskaya, I., y Cande, W, Z. (2004). A bouquet of chromosomes. *Journal of cell Sci*, 117(18), 4025-32. <http://doi.org/10.1242/jcs.01363>
- Heyting, C. (1996). Synaptonemal complexes: Structure and función. *Current Opinion in cell biology*, 8(3), 389-396. [http://doi.org/10.1016/s0955-0674\(96\)80015-9](http://doi.org/10.1016/s0955-0674(96)80015-9)
- Heyting, C., Dettmers, R.J., Dietrich, A.J.J., Redeker E.J. and Vink A.C. (1988). Two major components of synaptonemal complexes are specific for meiotic prophase nuclei. *Chromosoma* 96: 325- 332.
- Hunter, N. (2013). *Meiosis*. Elsevier Inc, 17–23.
- Junqueira LC. (2005). Aparato reproductor masculino. En: *Histología básica texto y atlas*. 6° Edición. Ed. Masson, Barcelona. 355-370.
- Karp, G. (2008). *Biología celular y molecular. Conceptos y experimento*. 5° Edición. México: McGraw-Hill.
- Keeney, S., Giroux, C. N., y Kleckner, N. (1997). Meiosis-specific DNA double-strand breaks are catalyzed by Spo11, a member of a widely conserved protein family . *Cell*, 88(3), 375-84.



- Kerr J.B., Loveland K.L., O bryan M.k., y Krester D.M. (2006) Cytology of the Testis and Intrinsic Control Mechanisms. N: E.Knobel, J.D. Neill, Eds. The Physiology of Reproduction. Ravens Press, Nwe York, 381-385.
- Kehlhoffner, J.L. and Dietrich, J. (1983) Synaptonemal complex and a new type of nuclear polycomplex in three higher plants: *Paeonia tennifolia*, *Paeonia delarayi* and *Tradescantia paludosa*. *Chromosoma* 88, 164-170.
- Klapholz, S., Waddell, C.S. and Esposito, R.E. (1985) The role of the spo-11 gene in meiotic recombination in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 110, 187-216.
- Kouznetsova A., Benanvente R., Pastink A. y Hoog C. (2011). Meiosis in Mice without a Synaptenmal complex
- La Cour, L. y Wells, B. (1970) Meiotic prophase in anthers of asynaptic wheat. A light and electron microscope study. *Chromosoma* 29, 419-427.
- Lammers, J. H., Offenber, H. H., Van Aalderen, M., Vink, A. C., Dietrich, A. J., & Heyting, C. (1994). The gene encoding a major component of the lateral elements of synaptonemal complexes of the rat is related to X-linked lymphocyte-regulated genes. *Molecular and Cellular Biology*, 14(2), 1137-1146.
- Lenormand T, Engelsta'dter J, Johnston SE, Wijnker E, Haag CR. (2016). Evolutionary mysteries in meiosis. *Phil. Trans. R. Soc. B* 371: 20160001. [.doi.org/10.1098/rstb.2016.0001](https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0001)
- Liebe B, Alsheimer M, Höög C, Benavente R, y Scherthan H. (2004). Telomere attachment, meiotic chromosome condensation, pairing, and bouquet stage duration are modified in spermatocytes lacking axial elements. *Mol Biol Cell* 15:827-837
- Liu, J.G., Yuan, L., Brundell, E., Bjorkroth, B., Daneholt, B. y Hoog, C. (1996). Localizatin of the N-terminus of SCP1 to the central element of the synaptonemal complex and evidence for direct interactions between the N-termini of SCP1 molecules organized head-to-head. *Exp. Cell. Res.* 226: 11-19.
- Moens, P.B. (1969) Multiple core complex in grasshopper spermatocytes and spermatids. *J. Cell Sci.* 40, 542-551.
- Moens, P.B. y Rapport, E. (1971) Synaptic structures in the nuclei of sporulating yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell. Sci.* 9, 665-677.
- Moens, P.B., Kolas N.K., Tarsounas M., Marcon E., Cohen, P. E., y Spyropoulos B. (2002) The time course and chromosomal localization of recombination-related proteins at meiosis in rhe mouse are compatible with models that can resolve the early DNA-DNA interactions without reciprocal recombination *J. cell Sci* 115:1611-1622
- Offenber, H.H., Dietrich, A.J.J. y Heyting, C. (1991). Tissue disrtibution of two major components of synaptonemal complexes of the rat. *Chromosoma* 101: 83-91.

- Page S. L. Y Hawley R. S. (2004). The genetics and molecular biology of the synaptonemal complex. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 20:525-558
- Paniagua, R., Nistal M., Sesma M.P., Alvarez-uría M. y Fraile B- (1993). *Citología e histología vegetal y animal*. Interamericana-McGraw-Hill. Madrid.
- Pousette, A., Leijonhufwd, P., Arver, S., Kvist, U., PettarI, J. y Hoog, C. (1997). Presece of synaptnemal complex protein 1 transversal filament-like protein in human primary spermatocytes. *Hum. Reprod.* 12: 2414-2417.
- Qiao, H., Chen, J. K., Reynolds, A., Höög, C., Paddy, M., & Hunter, N. (2012). Interplay between synaptonemal complex, homologous recombination, and centromeres during mammalian meiosis. *PLoS genetics*, 8(6), e1002790.
- Rasmussen, S. W. (1975) Synaptonemal polycomplexes in *Drosophila melanogaster*. *Chromosoma* 49, 321-331.
- Rasmussen, S.W. (1977) Meosis in *bombix mori* females. *Phill. Trans. R. Soc. B.* 277:343-350.
- Roeder G. S. 1997. Meiotic chromosomes: it takes two to tango. *Genes Dev.* 11, 2600-2621
- Ross H; Wojciech P. (2003). *Histologia: texto y atlas color con biología celular y molecular*, 5 Edición, Ed. Panamericana. Madrid, España; 782-813.
- Roth, T. (1966) Changes in the synaptonemal complex during meiotic prophase in Mosquito oocytes. *Protoplasma* 61, 346-386.
- Russel, L. D., Ettlin, R A. SinhaHikim, A. P., y Clegg, E. D. (1990). *Histological and Histopatological Evaluation of the Testis*, (Fisrt Edit). St. Louis, MO: Cache River Press
- Russell, L. D., Chiarini-Garcia, H., Korsmeyer, S. J. y Knudson, C. M. (2002) Bax-dependent spermatogonia apoptosis is required for testicular development and spermatogenesis. *Biol. Reprod.* 66, 950 –958. (doi:10.1095/biolreprod66.4.950)
- Schmekel . y Daneholt B. (1995). The región of the synaptonemal complex revealeted in three dimensión. *Trends Cel Biol.* 5:239-242
- Schramm, S., Fraune, J., Naumann, R., Hernandez-Hernandez, A., Höög, C., Cooke, H. J., y Benavente, R. (2011). A novel mouse synaptonemal complex protein is essential for loading of central element proteins, recombination, and fertility. *PLoS genetics*, 7(5), e1002088.

- Shibuya, H., Hernández-Hernández, A., Morimoto, A., Negishi, L., Höög, C., & Watanabe, Y. (2015). MAJIN links telomeric DNA to the nuclear membrane by exchanging telomere cap. *Cell*, 163(5), 1252-1266.
- Sisk, C. L., y Foster, D. L. (2004). The neural basis of puberty and adolescence. *Nature neuroscience*, 7(10), 1040.
- Smith, A. y Benavente, R. (1992). Identification of structural protein component of rat synaptonemal complexes. *Exp. Cell. Res.* 198: 291-297.
- Sofikitis N., Giotitsas N., Tsounapi P., Baltogiannis D., Giannakis D., y Pardalisdis n. (2008). Hormonal Regulation Of Spermatogenesis and Spermiogenesis. *Journal of steroid Biochemistry and Molecular Biology.* 109; 323-330.
- Solari, A. J., y O. Vilar. 1978. Multiple complexes in human spermatocytes. *Chromosoma (Berl.)*. 66:331-340.
- Solari, A. J. (1999). *Genética humana. Fundamentos y aplicaciones en medicina.* 2° Ed. Panamericana Argentina.
- Sotelo, J.R., Garcia, R.B. y Wettstein, R. (1973) Serial sectioning study of some meiotic stages in *Scapteriscus borelli*. *Chromosoma* 42, 307-333.
- Stack, S. (1973). The synaptonemal complex and the achiasmatic condition. *J. Cell Sci.* 13:83-95
- Syrjänen JL, Pellegrini L, Davies OR. (2014). A molecular model for the role of SYCP3 in meiotic chromosome organisation. *Elife.* 20;3. doi: 10.7554/eLife.02963.
- Trifonova A, Moens PB Evaluation of degenerating germ cells in normal juvenile mice. (2009) *Genome.* 52(10):891-6. doi: 10.1139/g09-059.
- Valenzuela Rivas, Y. (2017). Distribución de SYCP1, SYCP3 y gamma-H2AX en espermatocitos primarios de ratas prepúberes. Licenciatura en Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias.
- Wettstein, R., y Sotelo, J. R. (1965). Fine structure of meiotic chromosomes: The elementary components of metaphase chromosomes of *Gryllus argentinus*. *Journal of ultrastructure research*, 13(3-4), 367-381.
- Yang F, De La Fuente R, Leu NA, Baumann C, McLaughlin KJ, y Wang, PJ. (2006). Mouse SYCP2 is required for synaptonemal complex assembly and chromosomal synapsis during male meiosis. *J Cell Biol* 173:497-507
- Young, B., Woodford, P., & O'Dowd, G. (2013). *Wheater's Functional Histology E-Book: A Text and Colour Atlas.* Elsevier Health Sciences.

- Yuan L, Pelttari J, Brundell E, Björkroth B, Zhao J, Liu JG, Brismar H, Daneholt B, y Höög C. (1998). The synaptonemal complex protein SCP3 can form multistranded, cross-striated fibers in vivo *J Cell Biol.* Jul 27;142(2):331-9.
- Yuan L, Liu JG, Zhao J, Brundell E, Daneholt B, y Höög C (2000). The murine SCP3 gene is required for synaptonemal complex assembly, chromosome synapsis, and male fertility. *Mol Cell* 5:73-83
- Zickler D. y Kleckner N. (1998). The leptotene- Zigoten Transition of Meiosis. *Annual review of genetics.* 32(1), 619-697- <http://dio.org/10.1146/annurev.genet.32.1.619>
- Zickler D. y Kleckner N. (1999). Meiotic chromosomes: integrating structure and function. *Annu Rev Genet.* 33:603-754.