

UM CASO DE UNIÃO ESPONTÂNEA PELAS EXTREMI- DADES DE DOIS CROMOSSÔMIOS NÃO HOMÓLOGOS DO ESCORPIÃO BRASILEIRO TITYUS BAHIENSIS ACOM- PANHADA DE IRREGULARIDADES NO PAREAMENTO *

S. de Toledo Piza Jor.

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Quelroz"
da Universidade de S. Paulo

INTRODUÇÃO — Devido provavelmente à presença de um cinetocore em cada extremidade, cromossômios do *Tityus bahiensis* — a nossa espécie mais comum de escorpião — estão frequentemente sujeitos a fragmentações espontâneas. Os fragmentos terminais resultantes, qualquer que seja o seu comprimento, possuindo um cinetocore, podem continuar a viver como cromossômios independentes ou unir-se a um outro fragmento, ao passo que as peças medianas, desprovidas de cinetocores, quando não se prendam a fragmentos cêntricos, vesiculam e desaparecem. Quando ocorrem permutas de partes, estas dão origem, na metáfase da primeira divisão, a belas configurações em cruz.

O comportamento normal dos cromossômios do *Tityus* na meiose, abreviadamente estudado numa série de artigos (PIZA 1939, 1939a, 1941) (**) e detalhadamente descrito num trabalho mais extenso (PIZA 1943, 1943a), precisa ser aqui resumido com o fim de facilitar uma apreciação comparativa dos fatos a serem tratados no presente trabalho.

Os seis cromossômios variadamente dobrados ou sinuosos dos espermatozônios dão origem na metáfase da primeira di-

(*) Este trabalho será a seguir integralmente reproduzido em inglês, para fim de divulgação no estrangeiro.

(**) As referências bibliográficas encontram-se no texto inglês.

visão dos espermátocitos a três bivalentes em forma de bastonetes, cujos componentes, apesar da completa ausência de quiasmas, permanecem longo tempo lado a lado. Os cromossômios pareados são perfeitamente paralelos entre si ao longo de todo o seu comprimento (uma condição necessária à sua subsequente separação), mostrando porém as extremidades correspondentes voltadas para polos opostos. Uma linha longitudinal muito apagada observada no meio dos cromossômios quando olhados dos polos, indica se acharem já êles divididos ao longo de toda a sua extensão. De fato, os bivalentes vistos pelas extremidades apresentam um evidente aspecto quadripartido. Na anáfase os cromossômios separam-se a principio paralelamente e em seguida assumindo uma forma curva mais ou menos pronunciada. Na segunda metáfase os cromatídios-irmãos aparecem tão separados quanto os cromossômios de cada par na primeira metáfase. Êles são igualmente paralelos entre si e se separam da mesma maneira que os cromossômios dos espermátocitos primários.

Pareamento anormal devido a permuta de partes ou a modificações estruturais dos cromossômios tem sido frequentemente observado em células isoladas dos testículos e algumas vezes em tôdas as células de vários cistos. (PIZA 1943, 1943a, 1943b). Em certas circunstâncias, entretanto, variações numéricas e morfológicas dos cromossômios tendo aparecido em tôdas as células do testículo, crearam casos especiais nos quais a anormalidade tornou-se uma situação normal para os indivíduos afetados. Dois desses casos, descritos como o caso de uma cruz e um bastonete (XI) e o de uma cruz e três bastonetes (XIII), respectivamente, constituíram parte de um trabalho muito recente. (PIZA 1943, 1943a). O presente artigo tratará de um caso novo e grandemente interessante de fusão espontânea de dois cromossômios por uma de suas extremidades.

O caso de um cromossômio duplo e quatro cromossômios simples (Abreviadamente o caso WI) — Êste é o caso de um macho adulto, normal em seus caracteres morfológicos, capturado nos arredores do meu laboratório, no mês de Junho,

cujo testículo era quase que inteiramente constituído por células que exibiam um tipo novo e permanente de placa cromossômica. (Este caso foi referido na letra f, em minha última publicação (Piza 1943b)).

MATERIAL E MÉTODOS — Desde que os cromossômios do *Tityus* revelaram-se um excelente material para investigações, todo o indivíduo macho trazido para o laboratório é dissecado o mais depressa possível sob Ringer e o testículo dividido em duas partes desiguais, sendo a maior imediatamente transferida para o fixador e a menor montada em aceto-carmin ou aceto-orceina. Se o esfregão nada de extraordinário revela na constituição cromossômica do indivíduo, o material fixado é incluído em parafina e o bloco conservado em nossa coleção. Se, pelo contrário, aparece alguma coisa interessante para a investigação, o bloco é cortado a uma espessura conveniente e os cortes são tratados pelo método escolhido.

No presente caso a aceto-orceina foi usada para o esfregão, o Allen-Bouin modificado por Baur empregado como fixador e a hematoxilina de Heidenhain como corante. Os cortes foram feitos com a espessura de 8 micra.

OS ESPERMATOGÔNIOS — Comparados com os normais, os espermatogônios no presente caso diferem por apresentar, em vez de seis cromossômios aproximadamente iguais, cinco cromossômios, sendo quatro de tamanho ordinário e um quinto tendo um pouco mais que o dobro do comprimento daqueles. (Fig. 1). (***) A primeira impressão adquirida do exame do esfregão foi de que o cromossômio duplo se originasse de uma união pelas pontas de dois cromossômios ordinários, o que foi logo confirmado pelo estudo dos espermatócitos primários. Na morfologia desse cromossômio nada indica o ponto onde se deu a fusão, de sorte que, somente pelo exame do seu corpo, sem levar em consideração o comprimento e bem assim evidências indiretas, ninguém descobriria a sua natureza composta. Pelo estudo dos espermatogônios não é possível descobrir se o cro-

(***) As figuras se encontram no texto inglês.

mossômio composto é o resultado da união de dois cromossômios homólogos ou não homólogos. O comportamento dos cromossômios na primeira divisão meiótica dos espermátocitos, esclarece, porém, a questão.

Alguns espermátogônios extremamente raros, providos dos seis cromossômios do testículo normal, foram encontrados, mostrando assim que o tipo de anomalia tratado neste trabalho não é de uma ocorrência absolutamente geral.

OS ESPERMATÓCITOS PRIMÁRIOS — A análise da prófase da primeira divisão meiótica dos espermátocitos não ajuda muito a compreender o verdadeiro modo de pareamento dos cromossômios. Entretanto, alguma inabilidade para parear-se parece manifesta em regiões em que, nos indivíduos normais, os cromossômios costumam apresentar-se intimamente unidos. A metáfase, pelo contrário, oferece a melhor condição para uma análise cuidadosa do modo pelo qual os cromossômios se parearam. De fato, nas situações mais favoráveis pode-se facilmente observar, que um longo cromossômio, pareado em cada uma das suas metades com um parceiro diferente, e um bivalente independente, estão sempre presentes nas placas metafásicas. Essa observação torna claro que os cromossômios que se soldaram não são homólogos, ou, em outras palavras, que eles pertencem a pares diferentes. Algumas vezes o grupo formado pelos cromossômios unidos e os seus parceiros aparece regularmente distendido no plano do equador, permitindo assim uma observação mais pormenorizada de suas mútuas relações, bem como da maneira pela qual eles se acham presos ao fuso. (Figs. 2, 3, 20, 22). As vistas laterais mostram que a orientação é perfeitamente correta, dispendo-se os cromossômios independentes do mesmo lado do cromossômio composto. Todos eles apresentam as suas extremidades voltadas para o polo correspondente, comportando-se o último como se ele fosse um cromossômio simples. A despeito de ser o aparelho acromático menos evidente do que nos casos normais, as fibras ligando os polos às extremidades dos cromossômios puderam ser descobertas. Visto que a soldadura dos cromossômios reunidos foi seguramente precedida de uma fratura subterminal em

ambos, não se encontrou. de acôrdo, nenhuma indicação da presença de cinetocore na parte mediana do corpo do elemento composto. Jamais mostrou o cromossômio composto uma proeminência angular mediana dirigida para o polo ao qual êle se acha prêso ou assumiu a forma de um duplo arco, revelando a presença de cinetocores também no meio do seu corpo. As raras situações em que êste cromossômio formava um largo arco mediano para o lado do polo a que as suas extremidades apontavam, não são muito concludentes. (Fig. 25). Êsses aspectos excepcionais podem antes ser atribuídos a causas mecânicas secundárias do que a uma influência específica do polo sobre a parte mediana do cromossômio. Ademais, a frequente formação de pontes anafásicas fala em favor da ausência de cinetocores funcionais no meio do seu corpo. (Figs. 29, 30, 31). A julgar pelo comprimento do cromossômio composto, os pedaços destacados das extremidades que se soldaram devem ser extremamente pequenos para se conservarem como fragmentos cêntricos independentes. De fato, tais fragmentos nunca foram observados em parte alguma do testículo. Torna-se assim difícil encontrar uma explicação adequada para uma tão extrema fragmentação. Provavelmente, alguma alteração estrutural afetando prêviamente a extremidade dos cromossômios favoreceu a eliminação de um diminuto grânulo cêntrico incapaz de viver independentemente. (Para viver e comportar-se como um verdadeiro cromossômio, um fragmento necessita possuir alguma coisa mais que um cinetocore). Em suporte daquele ponto de vista está o fato de cromossômios unidos a um grânulo terminal semelhante a um pequeno satélite, referido em um artigo anterior. (PIZA 1943, 1943a). Se assumirmos que êsse fragmento terminal pode acabar por tornar-se inteiramente livre, estabelece-se uma condição que nos faz entender o que de fato se passou no caso tratado neste trabalho. Entretanto, a possibilidade da existência de alguma atividade cinética residuária no meio do cromossômio composto, devida a um resto da área de inserção pelo menos num dos cromossômios não está completamente excluída, especialmente em consequência da situação confusa presente na maioria das células.

Algumas vezes o cromossômio composto parece ter exatamente o dôbro do comprimento dos seus parceiros. Geralmente, porém, êle parece ainda mais longo, deixando no meio do seu corpo um grande espaço não pareado. (Figs. 5 a 11). Para explicar êsse fato, torna-se necessário considerar, que achando-se os cromossômios do grupo tetravalente pareados, porém não unidos e nem ligados por quiasmas, podem completar a sua contração com velocidades diferentes, independentemente uns dos outros. De conformidade com o comprimento da região mediana não pareada e mais fraca, o cromossômio composto fica aí sujeito a diferentes sortes de dobradura ou torsão, o que torna obscuras as relações mútuas entre os componentes do grupo. Nas situações menos complicadas como as representadas nas Figs. 4 a 6 e 8 a 10, bem como naquelas em que o grupo acha-se distendido no plano do equador (Figs. 20 a 23 e 25) os cromossômios independentes aparecem do mesmo lado do cromossômio composto, mostrando dêsse modo que os cromossômios soldados se reuniram com a superfície de pareamento voltada para o mesmo lado. (Veja o conceito de dorso-ventralidade desenvolvido por PIZA especialmente em 1942).

Uma das configurações mais comuns do grupo tetravalente é aquela em que o cromossômio composto se apresenta uniformemente encurvado e pareado em ambas as extremidades com um segmento dos seus parceiros geralmente mais longo do que a metade do comprimento dêstes. Disso resulta uma figura que pode ser comparada a um M ou W mais ou menos regular. (Fig. 5). Um exame cuidadoso dêsses frequentes aspectos mostrou que a habilidade de pareamento dos cromossômios acha-se grandemente alterada na região mais interna do grupo. A incapacidade mais ou menos pronunciada para o pareamento no segmento dos cromossômios correspondente à parte mediana do elemento composto pode perfeitamente ser atribuída à falta de cinetocore nessa região. Além disso, quando os cromossômios parecem estar regularmente pareados também em sua extremidade proximal (Figs. 4, 6, 12), não se pode daí concluir que a habilidade de pareamento seja igualmente desenvolvida naquela parte. É muito provável que os cromossômios

independentes, tendo-se pareado regularmente com a metade cêntrica do seu parceiro composto, possam, na metáfase, distender-se passivamente sobre a superfície de pareamento da outra metade. A verdade parece ser, que o pareamento só é regular num segmento correspondendo aproximadamente à metade distal dos cromossômios.

O pareamento normal tem sido considerado como devido a uma força de atração generalizada desenvolvida pelos cinetocores e espalhada por todo o corpo dos cromossômios. Essa força, segundo se depreende de muitas placas metafásicas, quando não inteiramente inoperante na região mediana do grupo tetravalente, tornou-se pelo menos evidentemente mais fraca nessa região. (Figs. 7 e 10). Além disso, no caso presente, a força de atração que mantém unidos os cromossômios pareados, relaxa-se muito mais cedo que normalmente, de sorte que os cromossômios frequentemente se separam antes de haver concluído a sua orientação no fuso. (Figs. 16 a 19). Por conseguinte, podem os cromossômios se mover na anáfase sem qualquer ordem, indo ao acaso para um ou para outro polo. Um tão prematuro relaxamento da força de pareamento muito frequentemente coincide com uma igualmente prematura separação dos cromatídios, o que complica a situação no grupo.

Conforme foi apontado em um trabalho anterior (PIZA 1943b) um idêntico comportamento dos cromossômios observado por BRIEGER & GRANER (1943) em esfregaços nos quais algumas células em metáfase normal achavam-se também presentes levou-os a uma interpretação completamente errônea da prófase meiótica no *Tityus*. Nada sabendo a respeito das diferentes sortes de anormalidades comumente encontradas no testículo desse interessantíssimo escorpião, os autores não suspeitaram que células destacadas de cistos normais e de cistos anormais estivessem presentes na mesma preparação, e assim dispondo as fases observadas na ordem que lhes pareceu corresponder à sequência normal dos fenômenos meióticos, deram uma descrição inteiramente falsa do modo de pareamento dos cromossômios do *Tityus*.

Agora, digamos alguma coisa acerca do bivalente inde-

pendente. Os cromossômios que entram na sua formação algumas vezes mostram, não somente regularidade no pareamento, mas também na orientação. (Figs. 4, 5, 7, 9, 16, 23). Quando isso se dá, a separação anafásica ocorre da maneira esperada. Geralmente, porém, êsses cromossômios aparecem não pareados, no mesmo lugar ou bastante distanciados na célula. (Figs. 3, 10, 11, 12, 22, 25, 27). No primeiro caso, tudo indica que êles estiveram anteriormente pareados e se separaram mais tarde em consequência de um prematuro relaxamento da força de pareamento. No segundo caso, não é improvável que êles nunca se tivessem pareado antes. Tanto num caso como noutro, os cromossômios não se orientam normalmente, movendo-se ao acaso para polos diferentes ou ambos para o mesmo polo. Porém, visto não haver evidência de qualquer alteração na estrutura cromossômica, pode-se assumir que os cinetocores, embora presentes, possam sofrer modificações de diversos graus em suas atividades fisiológicas, perdendo algumas vezes inteiramente as funções de que se acham encarregados nas situações normais. É interessante notar aqui que a inabilidade dos cinetocores para desempenhar a sua atividade no pareamento e na orientação dos cromossômios, pode ser determinada por algumas condições estabelecidas na célula como um sistema, considerando-se que não raramente todos os cromossômios se apresentam espalhados sem nenhuma ordem na célula. (Fig. 19). Quando isso acontece, a célula pode não se dividir, dando origem a um espermatócito secundário provido de um número completo de cromossômios. (Figs. 39, 40).

OS ESPERMATÓCITOS SECUNDARIOS — Quando a orientação nos espermatócitos primários se efetuou de uma maneira que pode ser considerada como normal para o presente caso, o cromossômio composto e um membro do par independente passam para um dos polos, enquanto que os dois cromossômios pareados com aquêle, conjuntamente com o outro membro do par independente, passam para o polo oposto. Assim se originam dois espermatócitos secundários, um com um cromossômio grande e um pequeno, e o outro com três cromos-

sômios pequenos. (Figs. 33, 34 e 32). Espermatócitos secundários providos de três cromossômios pequenos podem também resultar da fragmentação do cromossômio composto, o qual, a despeito de se encontrar associado nas extremidades com os seus dois parceiros, não se orientou normalmente, formando uma ponte anafásica. (Figs. 29 a 31). Quando os cromossômios do grupo tetravalente dissociam-se da maneira esperada, enquanto os dois membros do par independente, que não foram orientados, passam conjuntamente para o mesmo polo, podem se originar espermatócitos secundários com um único cromossômio grande (Fig. 36), assim como com um cromossômio grande e dois pequenos (Fig. 37), ou com quatro cromossômios pequenos. De tôdas essas sortes de espermatócitos secundários, sômente a última não foi encontrada. No entretanto, espermatócitos com um cromossômio grande e três pequenos foram achados. (Fig. 38). Estes podem ter-se originado tanto da passagem para o mesmo polo dos três componentes do grupo tetravalente e um membro do par independente, como da passagem do cromossômio composto acompanhado de um dos seus parceiros e de ambos os membros do par independente. Em qualquer dessas alternativas deve ter-se produzido uma célula com um único cromossômio pequeno. Tal célula, porém, não foi descoberta. Células possuindo um cromossômio grande e dois pequenos podem também resultar da passagem para um polo do cromossômio composto, um dos seus parceiros e um membro do grupo bivalente. (Fig. 41). A célula irmã nesse caso recebe dois cromossômios pequenos. Espermatócitos secundários providos de uma guarnição completa de cromossômios, ou seja, com um cromossômio grande e quatro pequenos, correspondendo a espermatócitos primários que não puderam se dividir, seja em consequência de uma inabilidade de papeamento ou de um prematuro relaxamento da força de atração que mantém juntos os cromossômios pareados, foram observados repetidamente. (Figs. 39, 40).

Resumindo, espermatócitos secundários possuindo de um a cinco cromossômios de diferentes origens, frequentemente encontrados, mostram a variedade de maneiras segundo as

quais os cromossômios dos espermátocitos primários podem pa-
rear-se orientar-se e separar-se.

Não se sabe se tôdas as sortes de espermátocitos secundá-
rios são igualmente capazes de divisão regular. Não possuímos
razões sérias para duvidar dessa possibilidade. Entretanto, ape-
nas algumas das categorias descritas neste trabalho foram en-
contradas em diferentes fases de mitose. (Figs. 42 a 44). Na-
quelas em que o cromossômio composto acha-se presente po-
de-se observar que êsse cromossômio comporta-se semelhan-
temente aos cromossômios normais, não revelando traço ul-
gum de um cinetocore ativo nas suas extremidades soldadas.
(Fig. 42).

Espermatozóides maduros foram largamente produzidos
como nos indivíduos normais. Acêrca de sua constituição cro-
mossômica, de sua vitalidade ou capacidade para fecundar os
ovos, nada se pode dizer aqui.

Únicamente um número muito pequeno de espermatogô-
nios de uma área limitada do testículo escaparam à anomalia
tratada neste artigo, apresentando uma placa metafásica de
aparência normal. Êsses espermatogônios deram origem a es-
permátocitos primários com três bivalentes independentes apa-
rentemente normais, bem como a alguns anormalmente cons-
tituídos. Eram, porém, em número muito pequeno para permi-
tir uma análise de sua verdadeira constituição cromossômica.

RESUMO

Êste trabalho trata de um caso de fusão espontânea por
uma das extremidades de dois cromossômios não homólogos
dos espermatogônios do escorpião *Tityus bahiensis*. O cromos-
sômio composto resultante dessa fusão, cêrca de duas vezes
mais longo que os cromossômios normais, aparece na metafá-
se dos espermátocitos primários pareado com os seus dois par-
ceiros, enquanto os outros dois cromossômios formam um par
independente. Devido, provâavelmente, à perda do cinetocore

das extremidades unidas, o pareamento é mais ou menos perturbado na região mediana do cromossômio composto. Geralmente êsse cromossômio apenas parea-se pelas suas extremidades cêntricas com aproximadamente a metade correspondente dos seus parceiros. Em virtude de um prematuro relaxamento da força de pareamento a orientação pode ser seriamente prejudicada, de maneira que a separação dos cromossômios pareados, não somente do grupo tetravalente, como também do bivalente, pode dar-se de diferentes maneiras, originando espermátócitos secundários providos de um a quatro cromossômios. Algumas vezes a separação dos cromossômios deixa de realizar-se, constituindo-se dêsse modo um espermátócito secundário com uma guarnição completa de cromossômios. Nas situações mais regulares o cromossômio composto, pareado pelo mesmo lado com os seus parceiros, distende-se no plano do equador. Quando isso acontece e o bivalente independente orienta-se normalmente, um dos espermátócitos secundários resultantes recebe o cromossômio composto e um membro do par independente, enquanto o outro recebe ambos os parceiros do cromossômio longo conjuntamente com o outro membro do grupo bivalente. Numa área bastante limitada do testículo foram encontrados alguns espermátogônios providos de seis cromossômios aparentemente normais, bem como alguns espermátócitos primários com três bivalentes independentes. Essas células, entretanto, eram em número muito reduzido para permitir uma análise de sua verdadeira constituição cromossômica. Em algumas delas parecia haver um novo tipo de anomalia cromossômica.