

CATEDRA DE BIOLOGIA

Prof. Encargado: Dr. MIGUEL MARCOS ABAD

DETERMINACION EXPERIMENTAL DEL SEXO

Por Miguel Marcos Abad

En todos los seres vivos, se observa, los intereses de la especie prevalecen sobre las conveniencias individuales, y sin embargo las funciones de reproducción, destinadas a la perpetuación de la especie, adquieren un relieve singular en cada individuo. Así surgen los sexos como las dos polaridades en que se agrupan los individuos, para que de su fusión resulte asegurada la procreación, siempre renovada, de las mismas formas vivas.

El sexo se define anatómicamente por la presencia de órganos genitales, y fisiológicamente por su capacidad para producir gametos; estas características representan ciertamente los factores primordiales distintivos del sexo, ya que fuera de aquellas toda manifestación de polaridad sexual carece de valor biológico real, puesto que no afecta a la naturaleza de las células germinales.

Sin embargo, además de estos caracteres primarios, existen otros que contribuyen a establecer la identidad sexual, aun cuando ellos se manifiestan en la época de madurez sexual.

En todos los tiempos llamó poderosamente la atención el problema de la determinación experimental del sexo. Así en la Antigüedad

clásica, ANAXAGORAS sostenía la existencia de dos tipos de *semilla*, alojada en testículos diferentes. ARISTÓTELES afirmaba que el sexo dependía exclusivamente del macho.

Otros autores contemporáneos tratan de conocer los factores determinantes de la sexualidad mediante el estudio de estadísticas, sin que ello dedujera conclusión alguna de importancia.

MAUPAS y WITSCHI consideran al factor térmico como determinante del sexo, al menos en individuos inferiores.

OTREOT, RUSSO CHAMPY, TOMASSELLI, entre otros son partidarios de que la alimentación abundante o pobre es causa determinante de la formación de machos o hembras respectivamente; DUBEAU afirma que la lecitina, colina e insulina aumentan la proporcionalidad femenina.

La fatiga sexual, según HAYES, disminuye la proporción de los individuos machos, como también la carencia de vitamina B, según PARKER y DRUMMOND.

Las variaciones del pH de los exudados vaginales producen variación en el nacimiento de machos y hembras.

Al comenzar el actual siglo existían una serie de teorías para tratar de explicar el determinismo del sexo, a menudo contradictorias, que fueron desechadas merced al notable desarrollo de los estudios genéticos, los cuales permitieron fijar con certidumbre que, en algunos casos, el sexo quedaba determinado en el momento de la fecundación (determinación singámica) aun cuando existan otros en que su determinación se produce en el huevo no fecundado (determinación progámica) o con posterioridad a la fecundación (determinación metagámica), por la naturaleza de los factores citoplásmicos y nucleares o cromosómicos que aporten los gametos.

Pero el punto de partida para el conocimiento de los factores citológicos, que presiden la diferencia de sexo, fue el descubrimiento de los cromosomas sexuales.

HENKING observó, al estudiar la espermatogénesis del hemíptero Pyrrhocoris, un elemento cromatínico peculiar, que en la segunda división madurativa pasaba sin dividirse a una de las espermátidas, por lo que la mitad de los espermatozoides solamente se encontraba en posesión de este elemento cromatínico. Pero no supo interpretar el significado de este comportamiento y le consideró como un nucleolo.

Su significación verdadera fue interpretada posteriormente por McCLELLAN y sucesivamente por WILSON, al comprender que se trataba de

un cromosoma, relacionando su distribución con la determinación del sexo.

La determinación del sexo se hizo posible. Bastaba para ello estudiar la constitución o patrimonio cromosómico del individuo y comprobar la existencia de los heterocromosomas. Pero esto entraña serias dificultades de identificación de los cromosomas X e Y.

Era preciso encontrar un método que, con facilidad, permitiera la identificación sexual del individuo. BARR y BERTRAM, en el año 1949, comunican la posibilidad de establecer la *personalidad* sexual del gato hembra, como consecuencia de haber encontrado en las neuronas cerebrales un corpúsculo yustanucleolar, al que en un principio creyeron se originaba en la zona SAT del cromosoma nucleolar. Pero esta hipótesis fue abandonada posteriormente tras los trabajos de BARR, BERTRAM y LINDSAY en 1950, en los que se afirmaba que el mencionado corpúsculo yustanucleolar era originado por restos de cromosomas X, mediante fusión de sus porciones heterocromáticas que originarían un corpúsculo visible al microscopio, al que se llamó primeramente satélite nucleolar, para más tarde, y de forma definitiva, designarle con la denominación de cromatina sexual, ya que es FEULGEN positivo, lo que revela su contenido en ADN, y su condición de carácter sexual primario, el cual no es influenciable por los trastornos evolutivos posteriores de la diferenciación sexual somática.

Una formación análoga, aun cuando su posición es variable dentro del núcleo, fue señalada en las células de diferentes tejidos en la misma hembra doméstica, y posteriormente lo fue también en diversos mamíferos incluidos el mono y el hombre. En los Roedores su estudio resulta más complicado, debido principalmente a la complejidad estructural del material cromatínico nuclear.

La determinación práctica de la cromatina sexual fue una realidad en 1953, tras los trabajos de MOORE, GRAHAM y BARR, al indicar que pueden practicarse biopsias epidérmicas para estudiar los núcleos de sus células.

El método era el siguiente: Fijación por el BOUIN o CARNOY de los fragmentos biopsiados; inclusión en parafina, para practicar más tarde cortes de 5 a 7,5 micras. Finalmente los cortes serán teñidos con la hematoxilina de HARRIS.

Solamente una parte de la capa de MALPIGHI presenta núcleos claros, de red cromatínica lo suficientemente nítida para poder apreciar

la cromatina sexual, la cual se presenta como una masa de mayor volumen que las demás formaciones cromatínicas, teñida con más intensidad y con bordes nítidos, siendo su aspecto morfológico plano-convexo y encontrándose situada contra la cara interna de la membrana nuclear.

DAVIDSON y SMITH ponen de manifiesto disposiciones morfológicas peculiares, existentes en el núcleo de los polinucleares, relacionadas también con el sexo cromosómico, mediante la aplicación de las técnicas hematológicas usuales, como son los métodos de GIEMSA, MAY-GRUNWALD, etc.

Mediante este método puede observarse en los pelinucleares la cromatina sexual bajo la forma de un apéndice mazudo y pediculado, a modo de palillo de tambor. Sin embargo, en gran número de ocasiones se precisa un conocimiento perfecto de los elementos sanguíneos, para discriminar si realmente se trata de cromatina sexual o de pequeños lóbulos nucleares, por lo que este método no es susceptible de generalizarse en la práctica por el confusionismo que puede originar.

Con el fin de obviar los inconvenientes de realizar una biopsia cutánea, como así mismo salvar los posibles errores diagnósticos del método preconizado por DAVIDSON y SMITH, se busca un método sencillo en su aplicación y que no ofrezca dudas en la interpretación de sus resultados. Simultáneamente y de modo independiente MARBERGER, BOCCABELLA y NELSON por un lado, y MOORE y BARR por otro, proponen en 1955 el estudio de la cromatina sexual de las células epiteliales de la mucosa bucal.

En estas células se puede apreciar un corpúsculo cromosómico, adosado a la membrana nuclear, en una proporción considerable para la hembra, estando prácticamente ausente en el macho.

La realización de este método es extraordinariamente simple. Consiste en obtener, de la mucosa bucal, células epiteliales mediante un simple raspado de la misma (cara interna del carrillo, o en el labio inferior). Obtenidas éstas, se verifica su extensión sobre un portaobjetos y antes de que se haya secado la extensión se fija mediante alcohol-éter, a partes iguales, durante un tiempo mínimo de tres minutos, siendo necesario destacar que el proceso de fijación es de importancia capital, pues su imperfección motiva el fracaso del método.

Posteriormente se tiñe la preparación con la hematoxilina de HARRIS, orceina, u otra coloración que ponga de manifiesto la cromati-

na sexual. Finalmente se lava y lleva la preparación al microscopio para su estudio.

También es aconsejable emplear el método siguiente: Una vez fijada la preparación por el alcohol-éter, se lava con alcohol de 70° y se rehidrata para seguidamente teñir durante dos minutos con el colorante de SHOR (mezcla tricrómica) y finalmente lavar.

Nosotros hemos utilizado este mismo método pero el fijador ha sido una mezcla de alcohol de 95° (cuatro volúmenes) y glicerina (un volumen) durante un tiempo mínimo de cuatro minutos. Este fijador tiene la ventaja sobre el anterior de no ser volátil, ni inflamarse. A sí mismo permite fijar por adherencia las células al portaobjetos.

Otro método de simple realización y cuyos resultados concuerdan con los obtenidos por varios autores, es el empleo del colorante de WRIGHT (usado en técnica hemática), pues el tiempo que se precisa para su ejecución es corto, habiéndole utilizado nosotros con preferencia a los demás y con resultados positivos.

Para comprobar la presencia de la cromatina sexual es recomendable examinar unos doscientos núcleos, operación fácil puesto que los frotis son extraordinariamente abundantes en células.

De cuantos métodos hemos examinado para determinar experimentalmente el sexo, podemos afirmar que el más práctico y de fácil aplicación es precisamente el que consiste en estudiar microscópicamente las células del epitelio bucal, cuyos nucleos de estructura cromatínica nítida ofrecen las máximas posibilidades para el estudio de la cromatina sexual.

RESUMEN

Aun cuando los intereses de la especie predominan sobre los propios del individuo, es en éste donde se manifiestan las características sexuales, por lo que a él recurriremos para su determinación.

Además de los caracteres anatómicos y fisiológicos que definen al individuo sexualmente, HENKING descubre un corpúsculo cromatínico relacionado con la distribución del sexo (MC CLUNG y WILSON) que fue el punto de partida para su identificación celular.

BARR y BERTRAM describen un corpúsculo próximo al nucleo de ciertas neuronas, mediante el cual identifican el sexo en la hembra (*Felis catus*). Una formación análoga fue señalada en células de diversos

tejidos, a la que se denominó cromatina sexual, siendo posible su determinación práctica mediante biopsias cutáneas (MOORE, GRAHAM y BARR).

Para evitar los inconvenientes que supone la realización de una biopsia cutánea, MARBERGER, BOCABELLA y otros proponen la determinación experimental del sexo mediante la observación de la cromatina sexual existente en las células del epitelio bucal; procedimiento de fácil aplicación y de excelentes resultados.

RESUME

Quoique les intérêts de l'espèce prédominent sur ceux de l'individu, c'est dans ce dernier que se manifestent les caractéristiques sexuelles; par conséquent, c'est dans l'individu que nous ferons leur détermination.

Outre les caractères anatomiques et physiologiques qui définissent sexuellement l'individu, HENKING découvre un corpuscule chromatiniqne qui a rapport avec la distribution du sexe (MC CLUNG et WILSON) qui fut le point de départ pour son identification cellulaire.

BARR et BERTRAM décrivent un corpuscule proche au noyau de certains neurones, au moyen duquel ils identifient le sexe dans la femelle (*Felix catus*). On signala une formation analogue dans des cellules de plusieurs tissus, à laquelle on donna le nom de chromatine sexuelle, et sa détermination pratique fut possible par des biopsies cutanées (MOORE, GRAHAM et BARR).

Pour éviter les inconvénients que suppose la réalisation d'une biopsie cutanée, MARBERGER, BOCABELLA et d'autres, proposent la détermination expérimentale du sexe au moyen de l'observation de la chromatine sexuelle qui se trouve dans les cellules de l'épithélium buccal; un procédé facile à utiliser et par lequel on obtient des résultats excellents.

SUMMARY

Though the interest of the species prevails on that of the individual, it is in this latter that the sexual characteristics are shown; we shall

accordingly determine these characteristics in the individual rather than in the species.

Beside the anatomical and physiological complexion which sexually distinguish the individual, HENKING discovers a chromatinic corpuscle related to the distribution of the sex (MC CLUNG and WILSON) and which was the starting point for its cellular identification.

BARR and BERTRAM describe a corpuscule next to the nucleus of certain neurons through which the sex of the female may be identified (*Felix catus*). An analogous form was found in the cells of various tissues which was called sexual chromatine and its practical determination became possible through cutaneous biopsies (MOORE, GRAHAM and BARR).

In order to prevent the onconvenients and difficulties which may occur by making a cutaneous biopsy, MARBERGER, BOCABELLA et al., propose the experimental determination of the sex by means of the observation of the sexual chromatine which is found into the cells of the buccal epithelium; this procedure is very easy and gives satisfactory results.

BIBLIOGRAFIA

- HENKING, 1891.—Citado por D'Ancona. *Tratado de Zoología*. Tomo I: 256-263 y 293-308. Ed. Labor. Barcelona.
MC CLUNG, 1901.—Citado por D'Ancona. *Tratado de Zoología*. Tomo I: 256-263 y 293-308. Ed. Labor. Barcelona.
ROMEIS, B. 1928.—*Guía formulario de técnica histológica*: 513. Ed. Labor. S. A. Barcelona.
WILSON, 1937.—*The cell in development and heredity*. Mc Millan Co. Nueva York. Citado por D'Ancona.
BARR, M. L. y BERTRAM, E. G. 1949. Nature. 163: 676-677.
LANGERON, M. 1949.—*Précis de microscopie*: 1137-1138 y 1185-1207. 7.^a ed. Masson et Cie, Ed. París.
BARR, M. BERTRAM, E. y LINDSAY, H. 1950.—*Anat. Rec.* 107: 283-297.
MOORE, K. GRAHAM, M. y BARR, M. 1951.—*Anat. Rec.* 109: 403.
GRAHAM, M. y BARR, M. 1952.—*Anat. Rec.* 112: 709-718.
MOORE, K. y BARR, M. 1953.—*J. Com. Neurol.* 98: 213-231.
MOORE, K. y BARR, M. 1954.—*Act. Anat.* 21: 197-208.
DAVIDSON, W. y SHITH, D. 1954.—*Brit. Med. J.* 2: 6-7.
WILKINS, L. GRUMBACH, M. y VAN WYK, J. 1954.—*J. Clin. Endocr. metab.* 14: 1270.

- HINGLAIS, H. y HINGLAIS, M. 1954.—*Compt. Rend. les Seanc. de la Soc. de Biol.* 21-22: 1747-1748.
- MARBERGER, E. BOCCABELLA, R. y NELSON, W. 1955.—*Proc. Soc. Exp. Biol.* 89: 488-489.
- LARREGLA, S. 1956.—*Bol. Inst. Pat. Méd.* 6: 121-126.
- VITRY, G. FAVIER, G. y GALINIER, L. 1956.—*Comp. Rend. des Seanc. de la Soc. de Biol.* 3: 547-550.
- MARTINEZ DE VICTORIA, M. 1957.—*Laboratorio*, 136: 301-316.
- BARRIO CUADRILLERO, C. 1957.—*Medicamenta* (ed. médicos) 311: 170-174.
- DAUFI, L. 1959.—*Farmaes* 30: 553-571.
- D'ANCONA, H. 1960.—*Tratado de Zoología*. Tomo I: 256-263 y 293-308. Ed. Labor. Barcelona.