

Citogenética

Estudio del cariotipo humano.

Descripción y metodología.

Criterios de clasificación.

Técnicas de bandeo.

Hibridación in situ (FISH)

- Tipos de sondas

- Multifish (SKY), (CGH).

Citogenética humana

Estudia el conjunto de cromosomas de un individuo

Cromosomas metafásicos

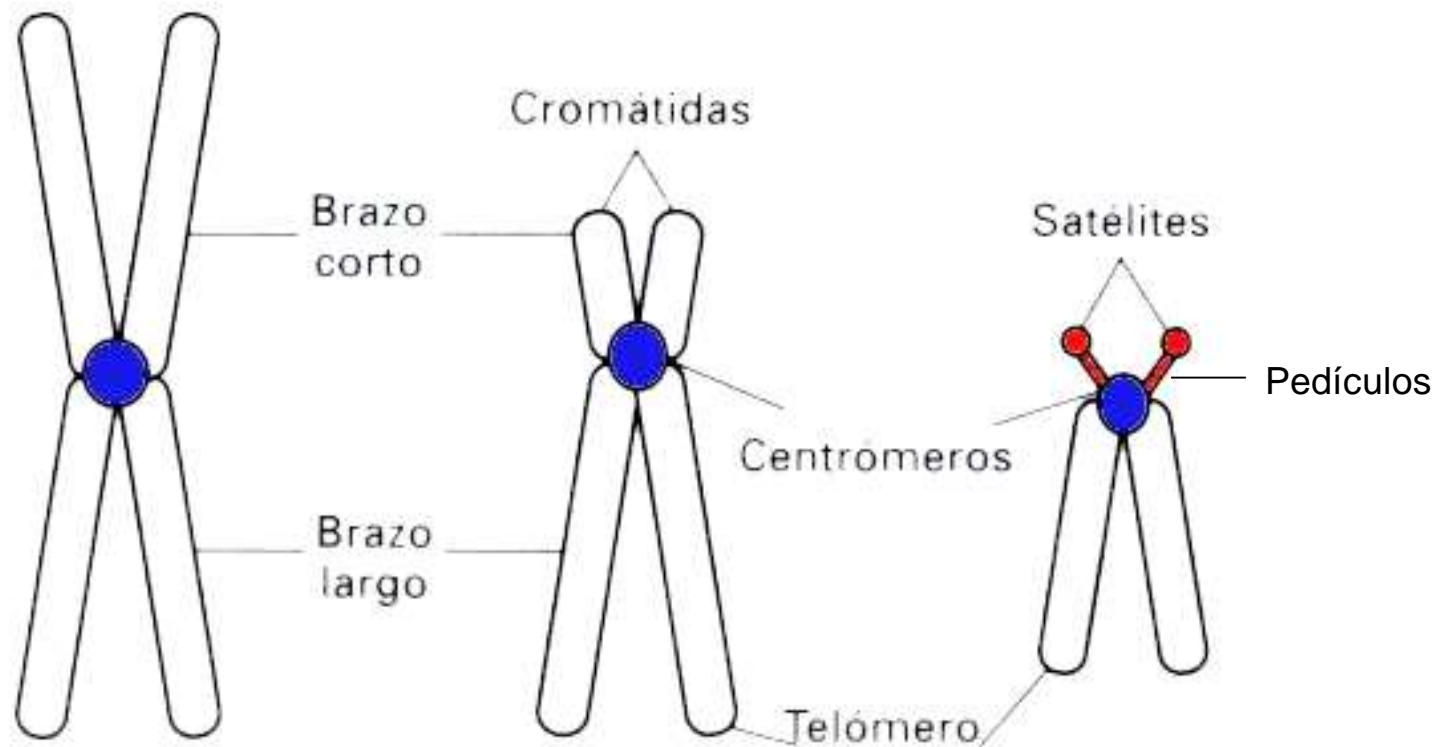
1956 Tjio y Levan Demuestran que el núcleo de las células humanas hay 46 cromosomas

1959 Lejeune & cols Asocian una alteración cromosómica con un Síndrome clínico: **Trisomía 21- Síndrome de Down**

Desde entonces se han descrito muchas alteraciones cromosómicas como responsables de la etiología de muchos síndromes polimalformativos

Cromosomas metafásicos

Son cromosomas formados por dos cromátidas hermanas = dos moléculas de ADN idénticas

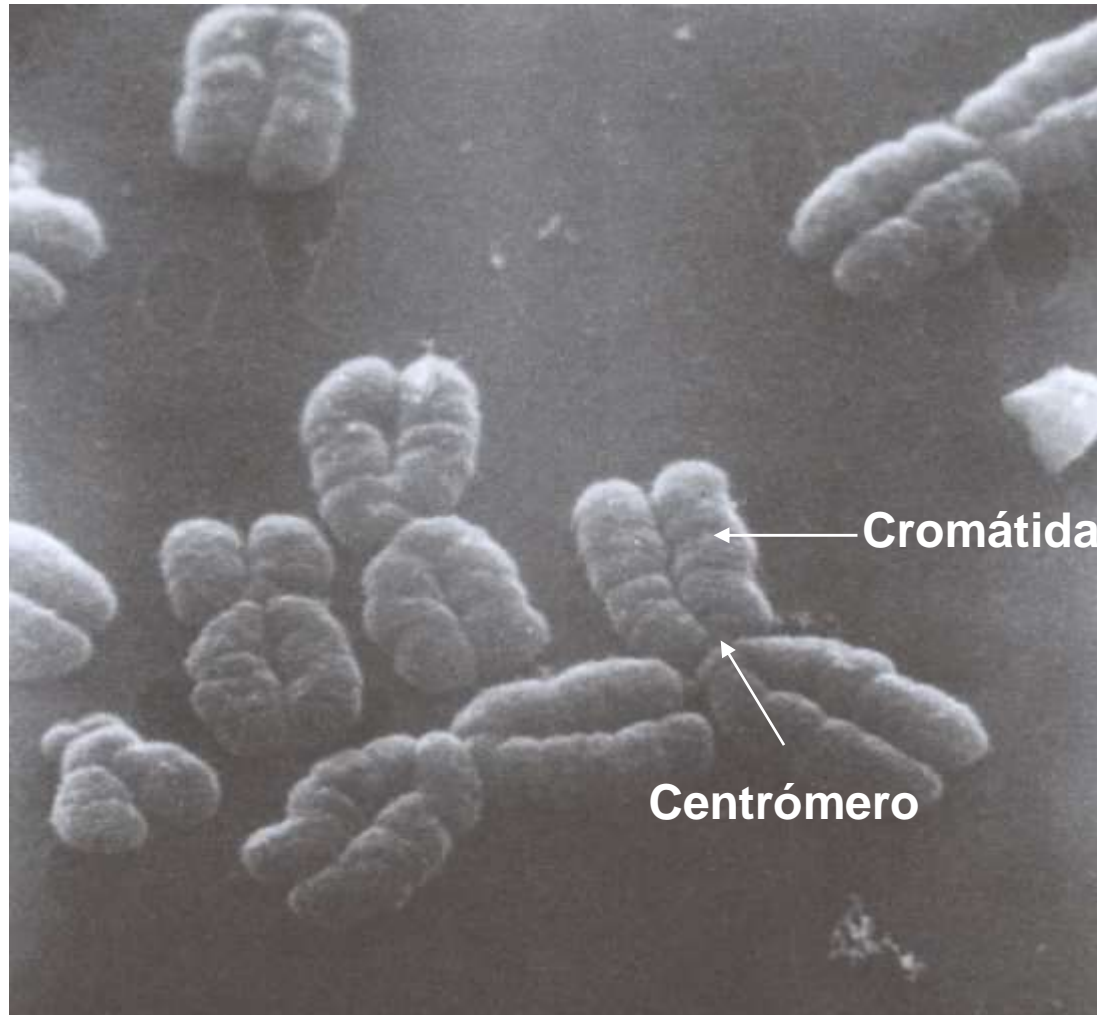


Metacéntrico

Submetacéntrico

Acrocéntrico

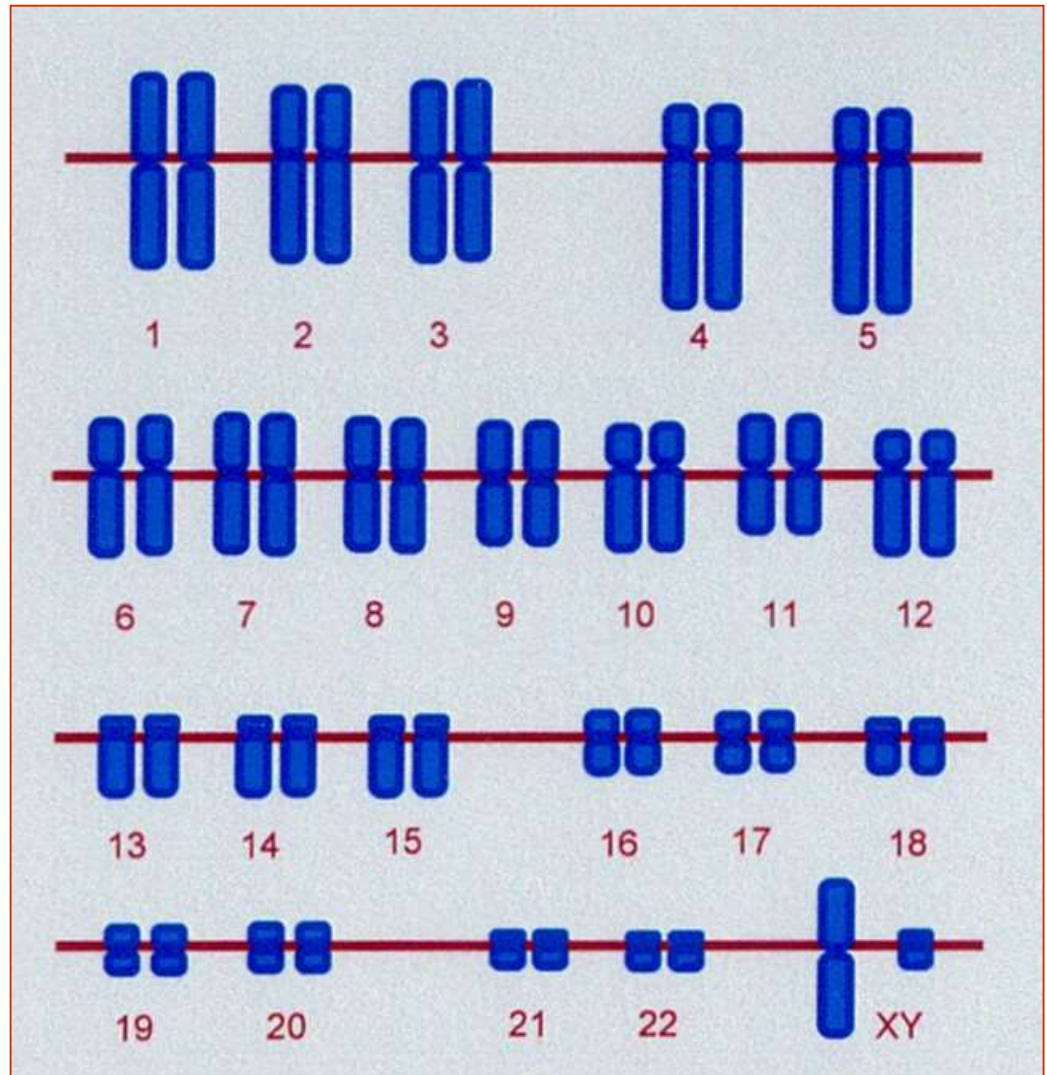
Cromosoma metafásico



Cariotipo: conjunto de cromosomas que caracteriza a una especie.

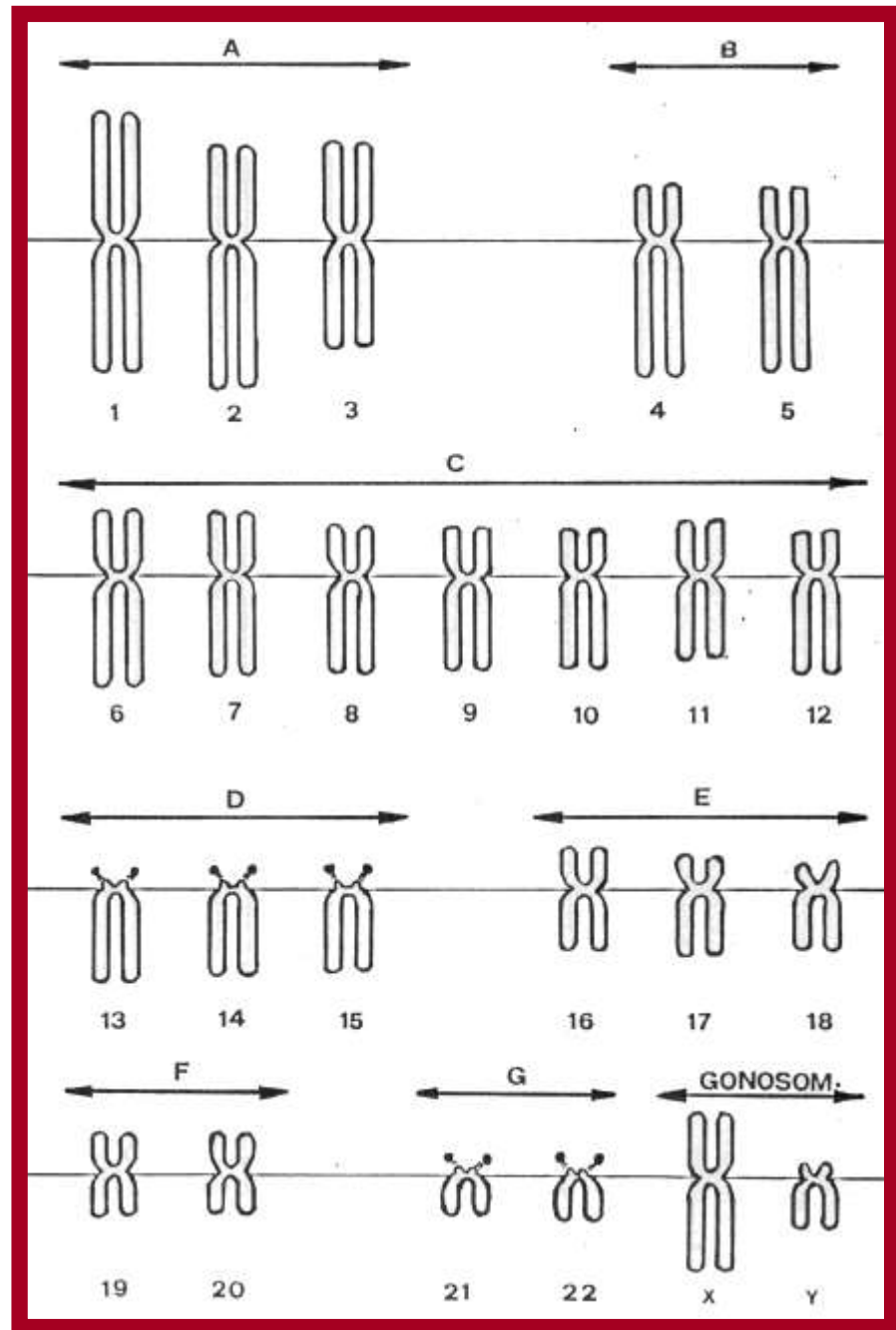
Cariotipo humano
46 cromosomas
23 pares de homólogos

22 pares de **autosomas**
1 par de **gonosomas**
24 tipos cromosómicos



24 tipos cromosómicos

Se clasifican de mayor a menor tamaño y según su morfología en **8 grupos**





Cada cromosomas **metafásico** esta formado por dos cromátidas hermanas y equivale a dos moléculas de ADN idénticas asociadas a proteínas

Cada cromosoma **interfásico** equivale a una molécula de ADN asociada a proteínas

Las moléculas de ADN de los cromosomas tienen entre 50 y 250 Mb

Un gen tiene entre 1'5 Kb y 2000 Kb
la media es 28 Kb

Metodología citogenética

Material

- **Linfocitos de sangre periférica**
- Médula ósea
- Líquido amniótico
- Vellosidades coriales
- Piel

Método

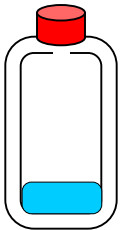
Directo:
Indirecto: cultivo antes del procesamiento

Procesamiento





5 ml de sangre venosa



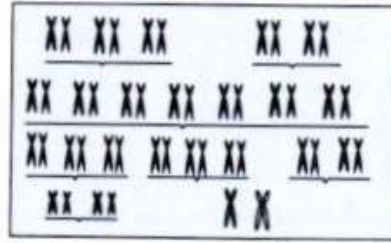
Sembrar en 125 ml de RPMI + fitohemaglutinina



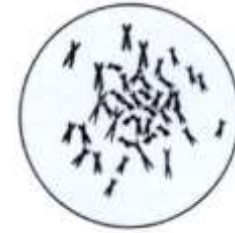
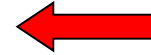
Incubar a 37 °C durante 3 días



Añadir colchicina



Cariotipo



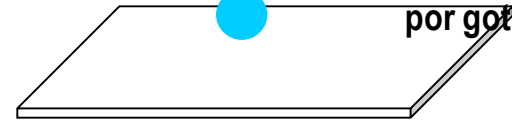
Fotografía



Tinción



Dispersión celular sobre un portaobjetos por goteo



Fijación de las células Carnoy



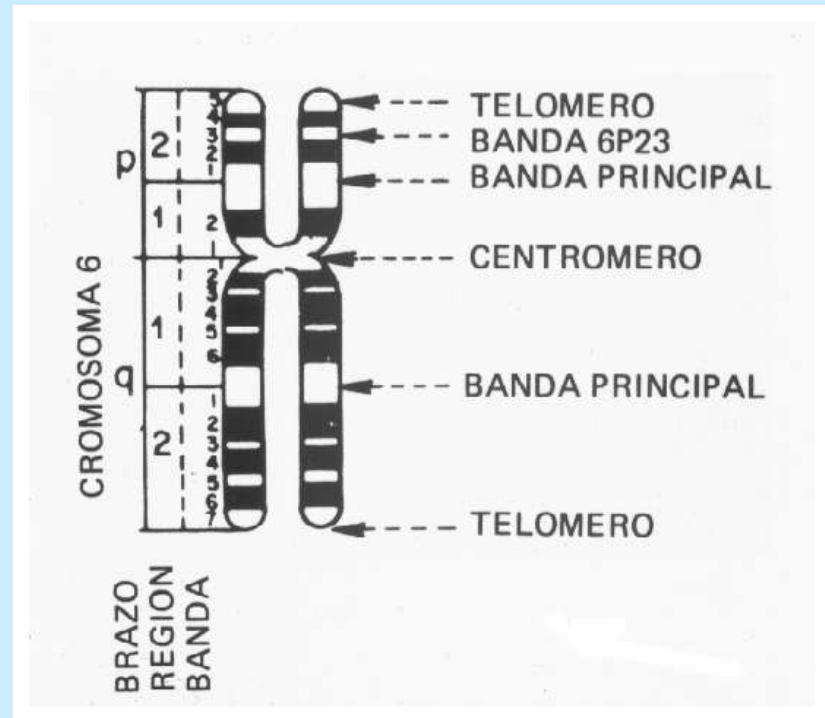
Solución hipotónica salina
CIK 0,075M

Criterios de clasificación

- **Denver 1960**
 - Tamaño
 - Posición del centrómero
 - Presencia o ausencia de satélites

- **París 1971**

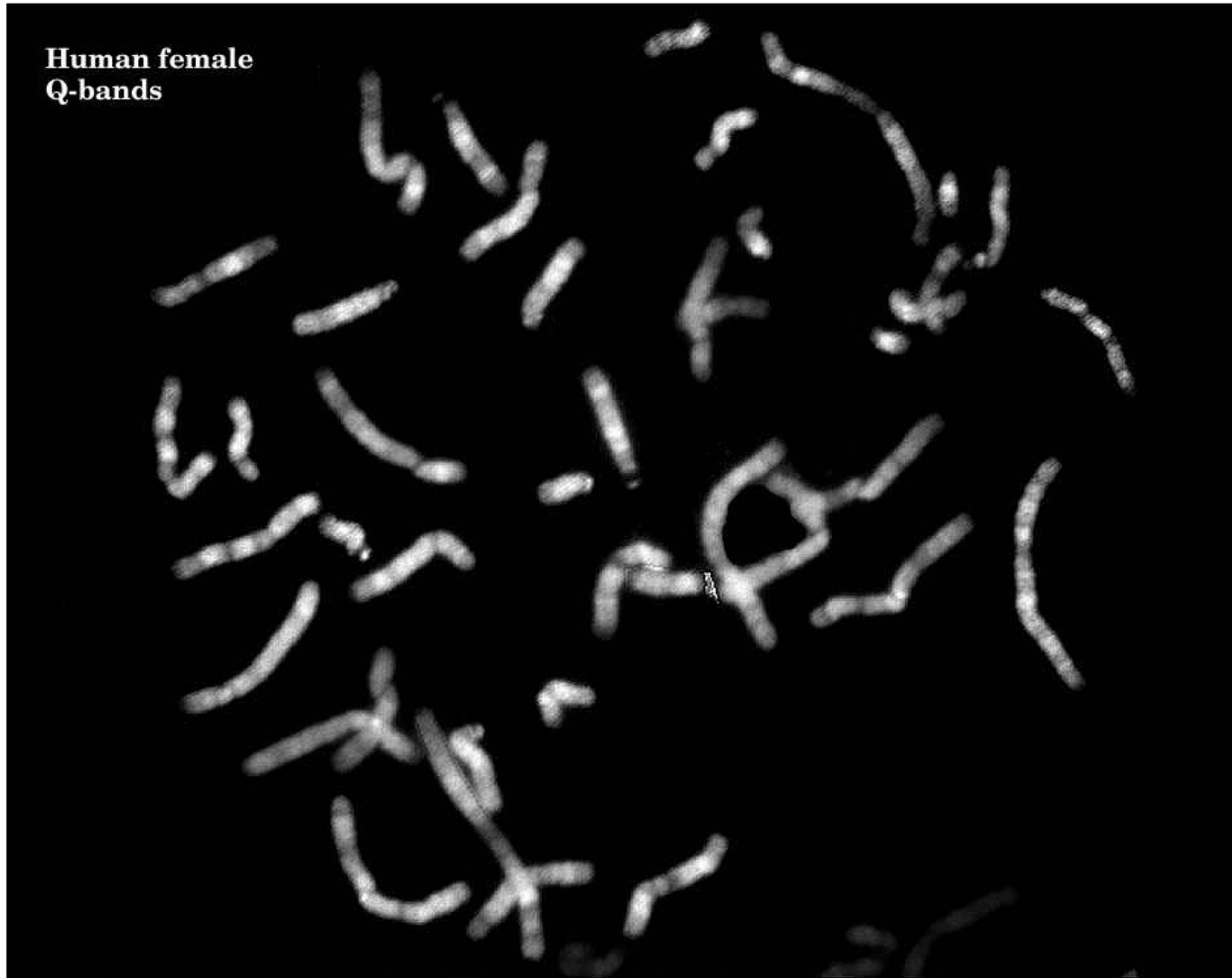
- Patrón específico de bandas



Bandas Q:

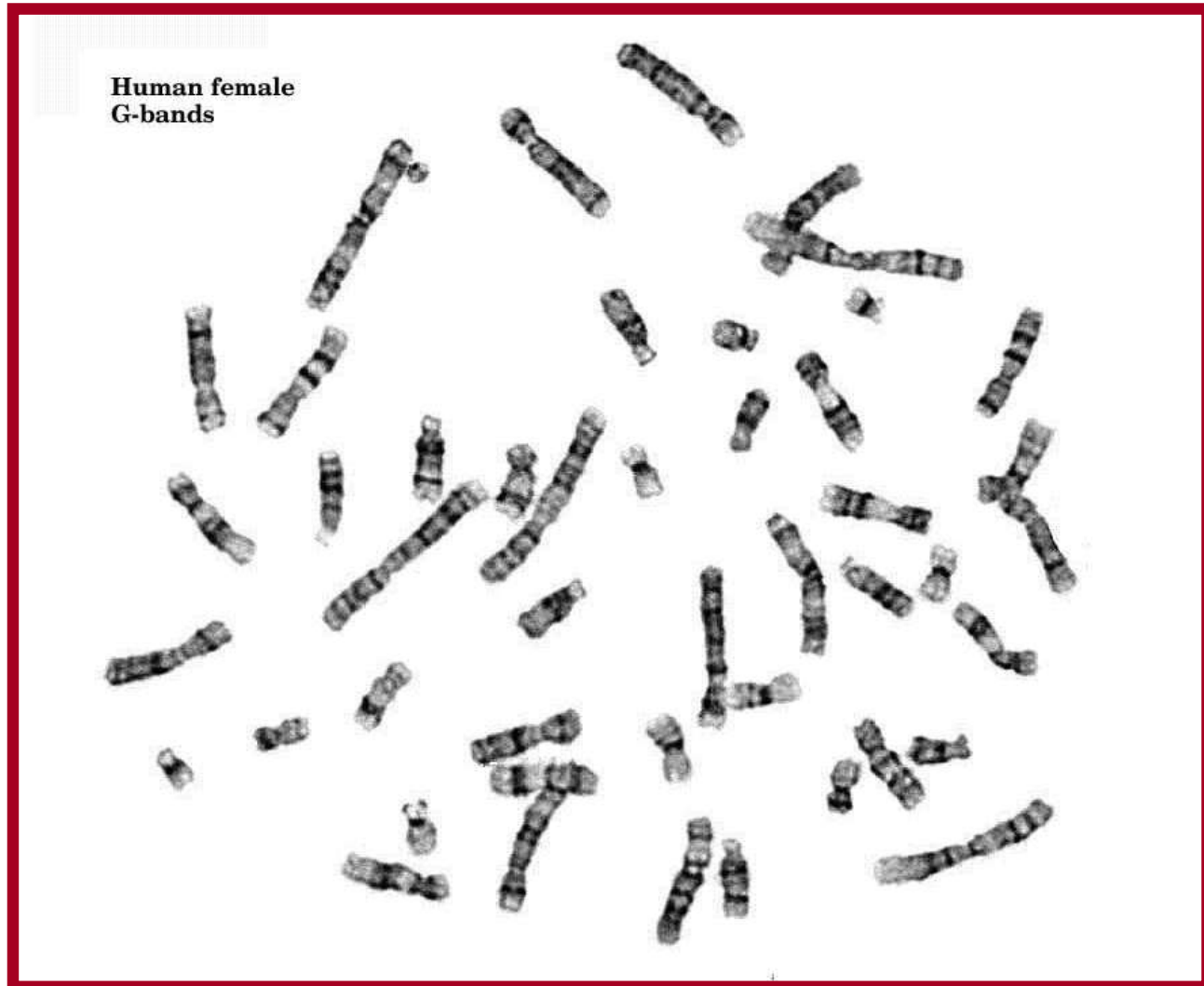
(Casperson y cols., 1970)

Tratamiento con Quinacrina
Regiones ricas en AT, cromosoma Y

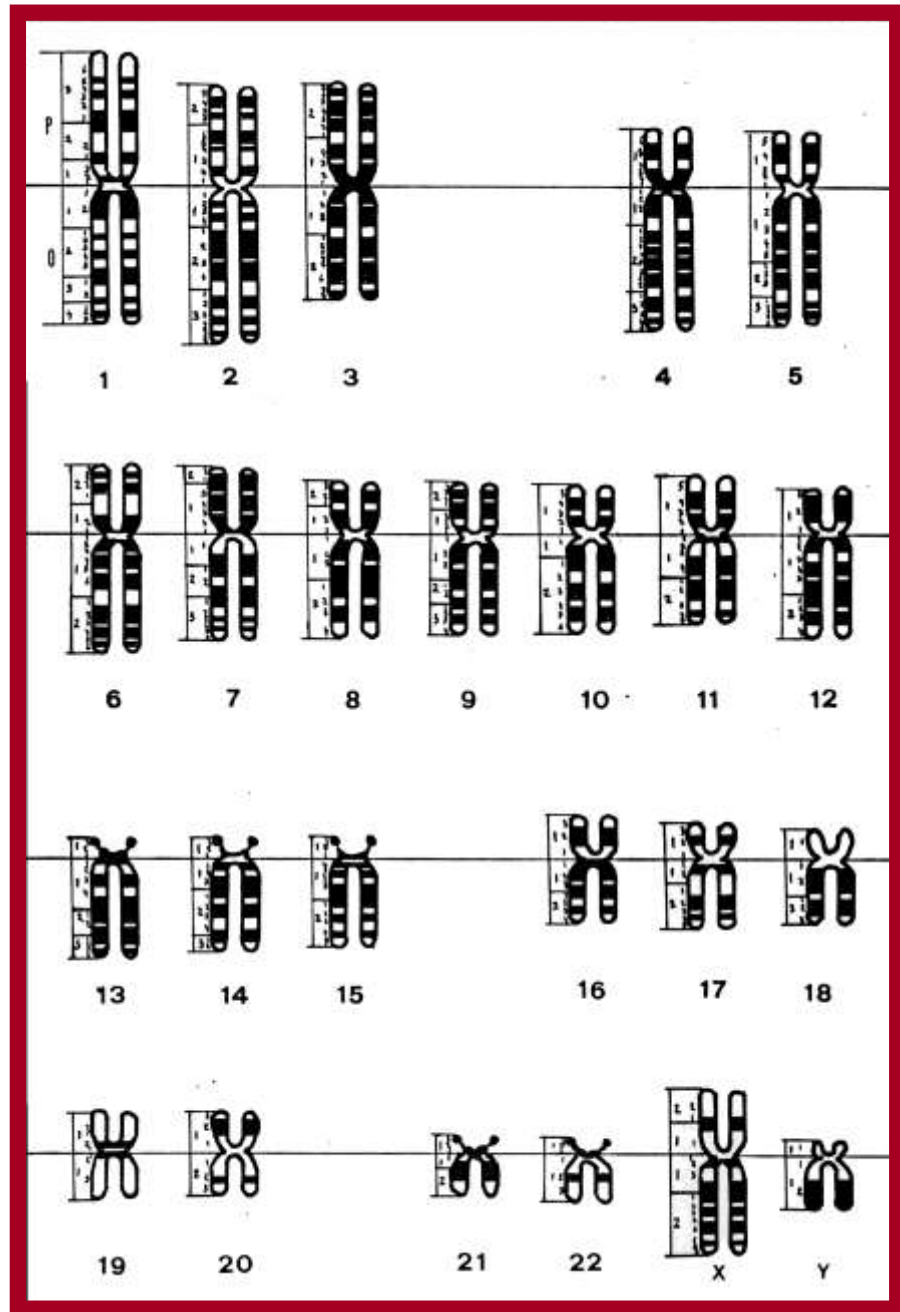


Bandas G: (Seabright, 1971)

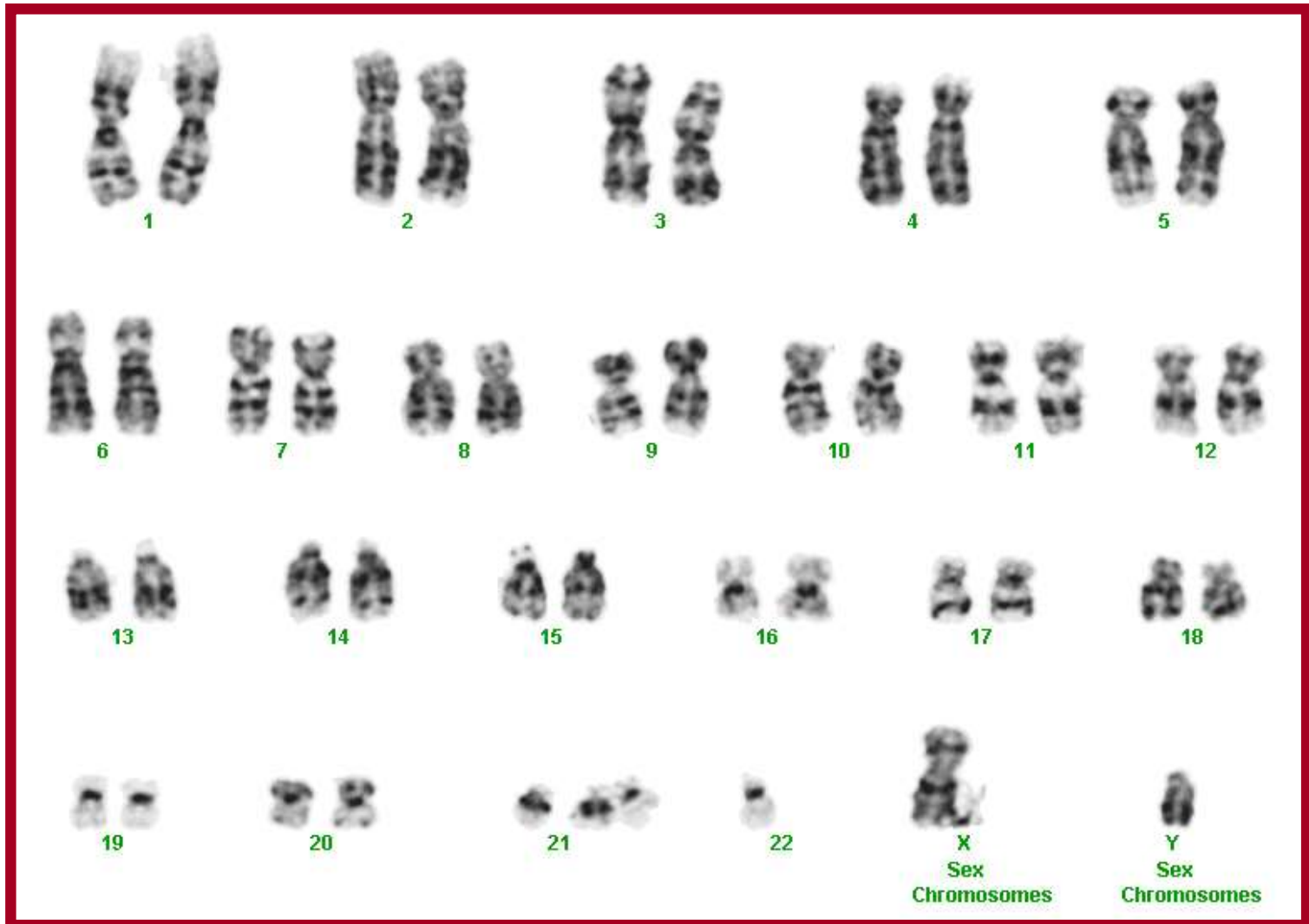
Tratamiento con tripsina + Giemsa
Regiones ricas en AT (bandas oscuras)



Patrón de Bandas Q y G (1971)



Idiograma con bandas G

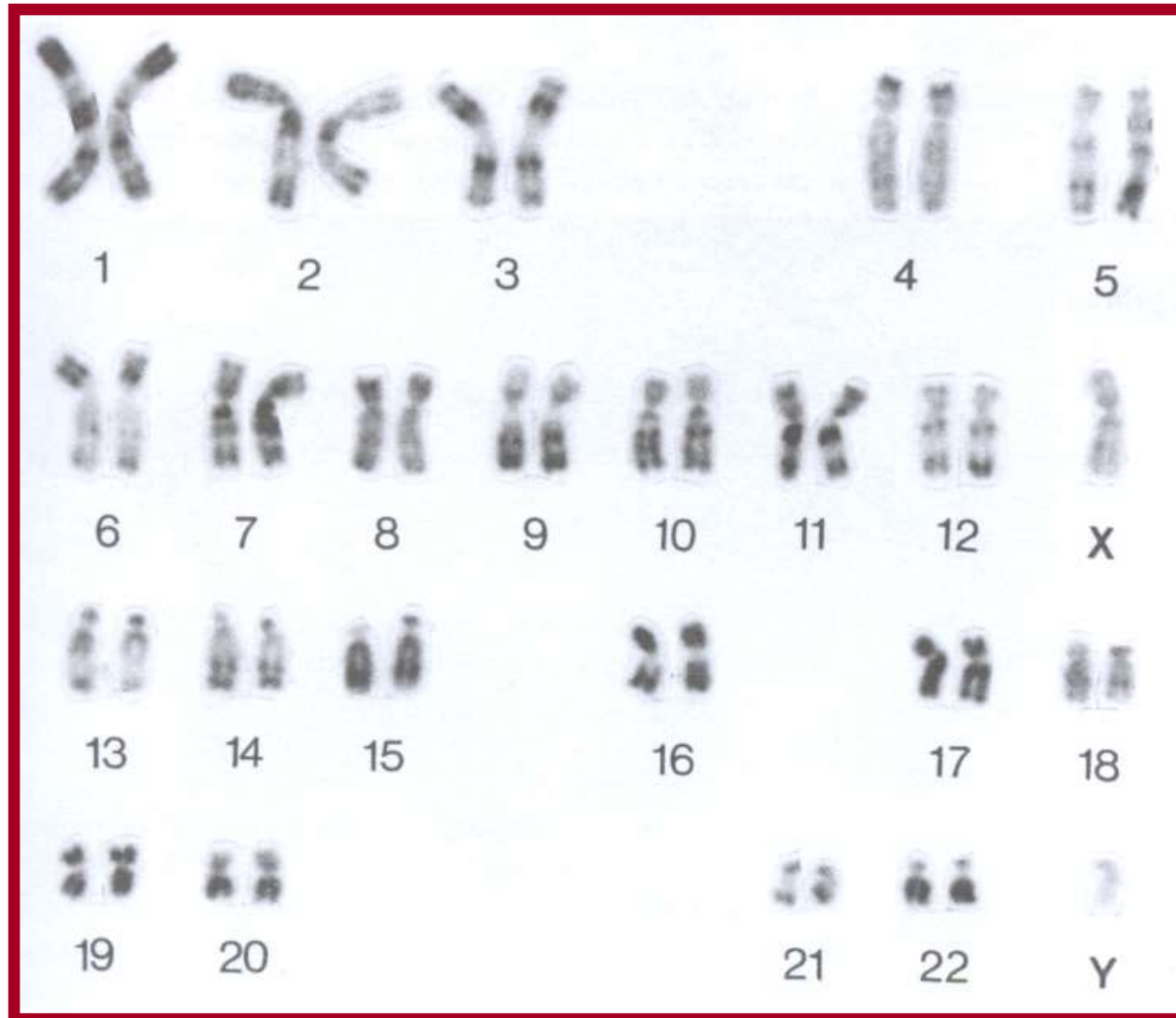


Fórmula cromosómica: 46, XY

Bandas R:

(Dutrillaux y Lejeune, 1971)

Patrón reverso al de bandas Q y G
Regiones ricas en CG (bandas oscuras)





Par 3

Par 16

Bandas:

G

R

(Reverso)

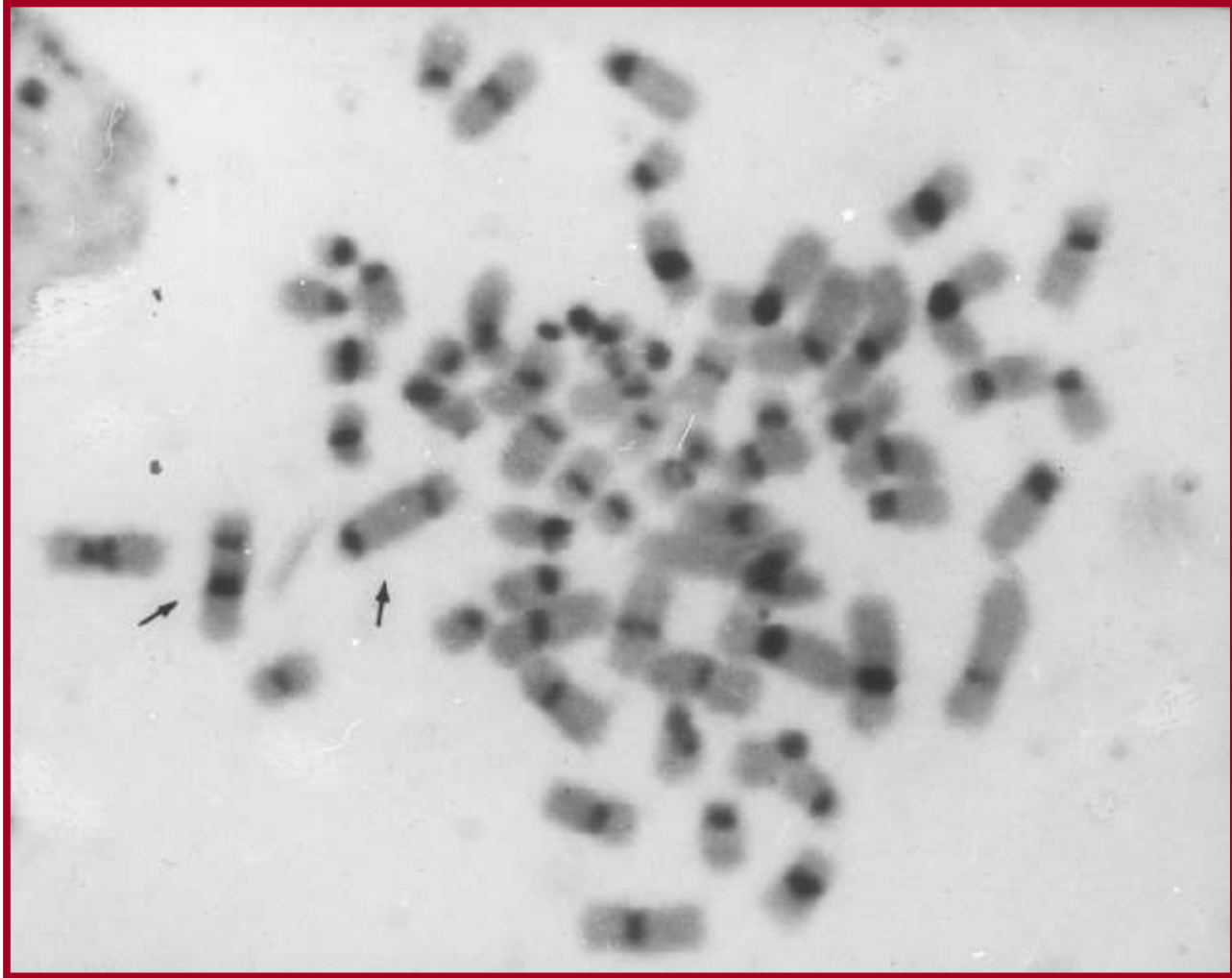
Bandas C:

(Arrighi y Hsu, 1971)

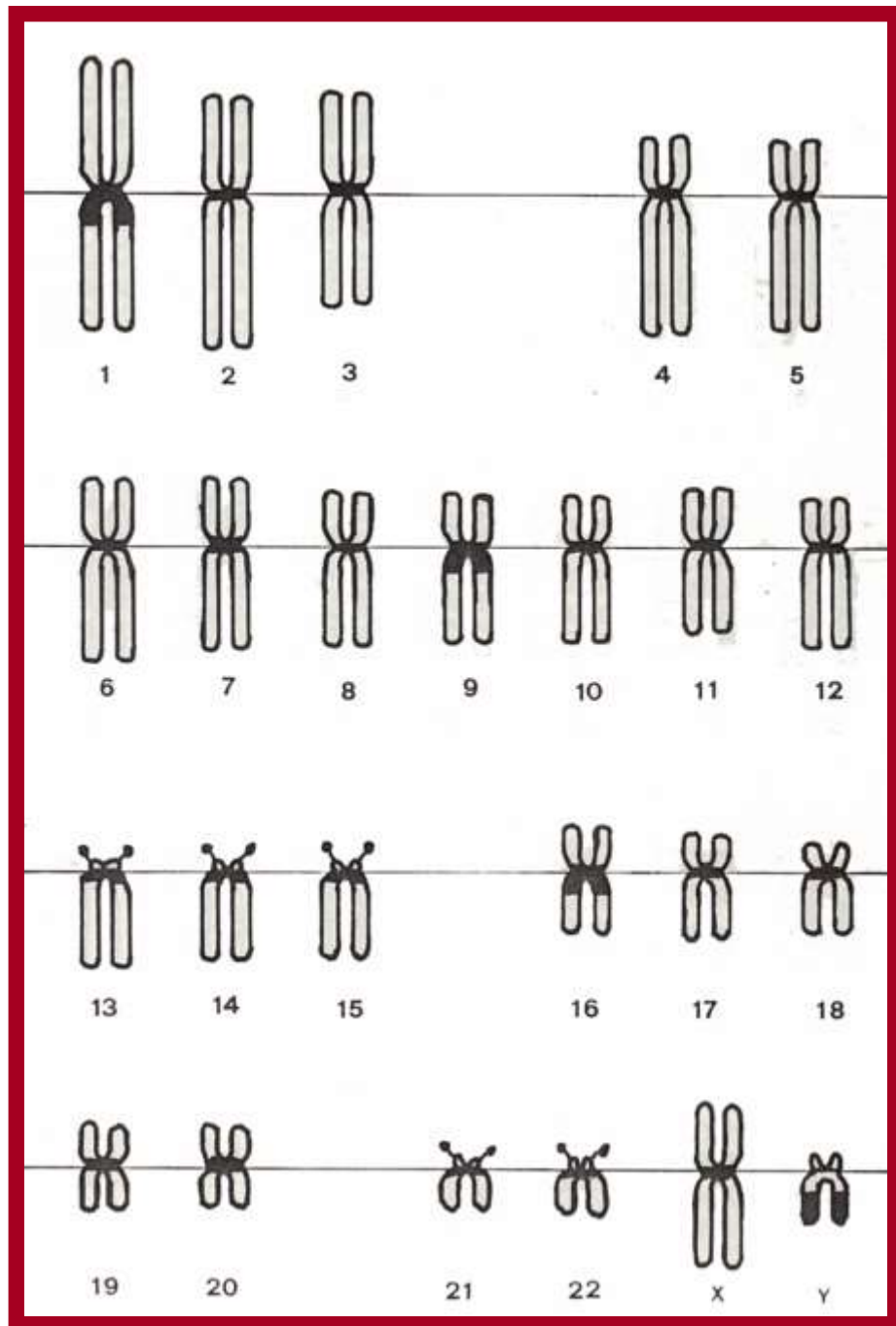
Heterocromatina constitutiva



Bandas C



Patrón de Bandas C (1971)



Idiograma con bandas C



Fórmula cromosómica: 47, XY, +13

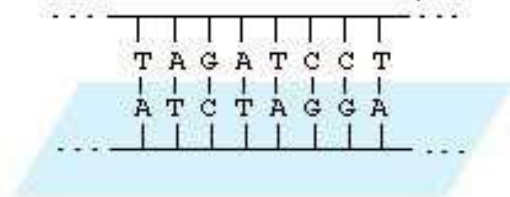
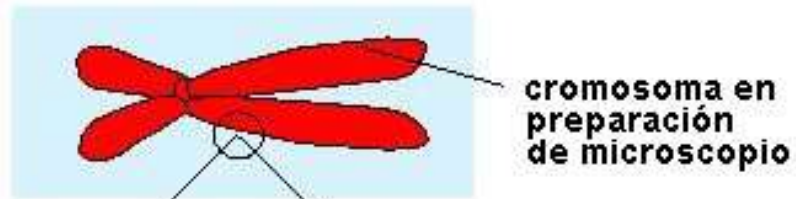
Limitaciones de la Citogenética Convencional :

- Requiere metafases
- No siempre la calidad de las metafases es optima
- Resolución limitada (en el mejor de los casos 2-5 Mb)

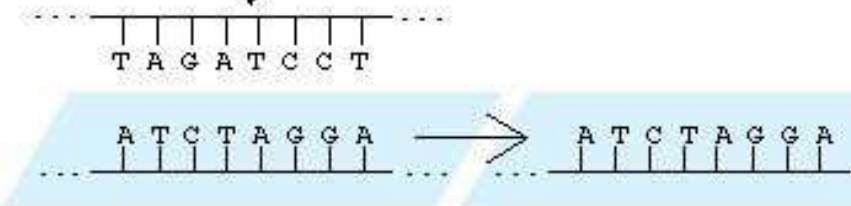
Alternativa : Citogenética Molecular

1. **FISH** (Hibridación in situ con fluorescencia)
 - Requiere saber lo que se busca
 - Tener la sonda adecuada
 2. Otras técnicas:
 - Requieren equipos muy sofisticados y apoyo informático
- SKY** (Cariotipo espectral multicolor, multfish)
CGH (Hibridación Genómica Comparada)

FISH (Hibridación in situ con fluorescencia)



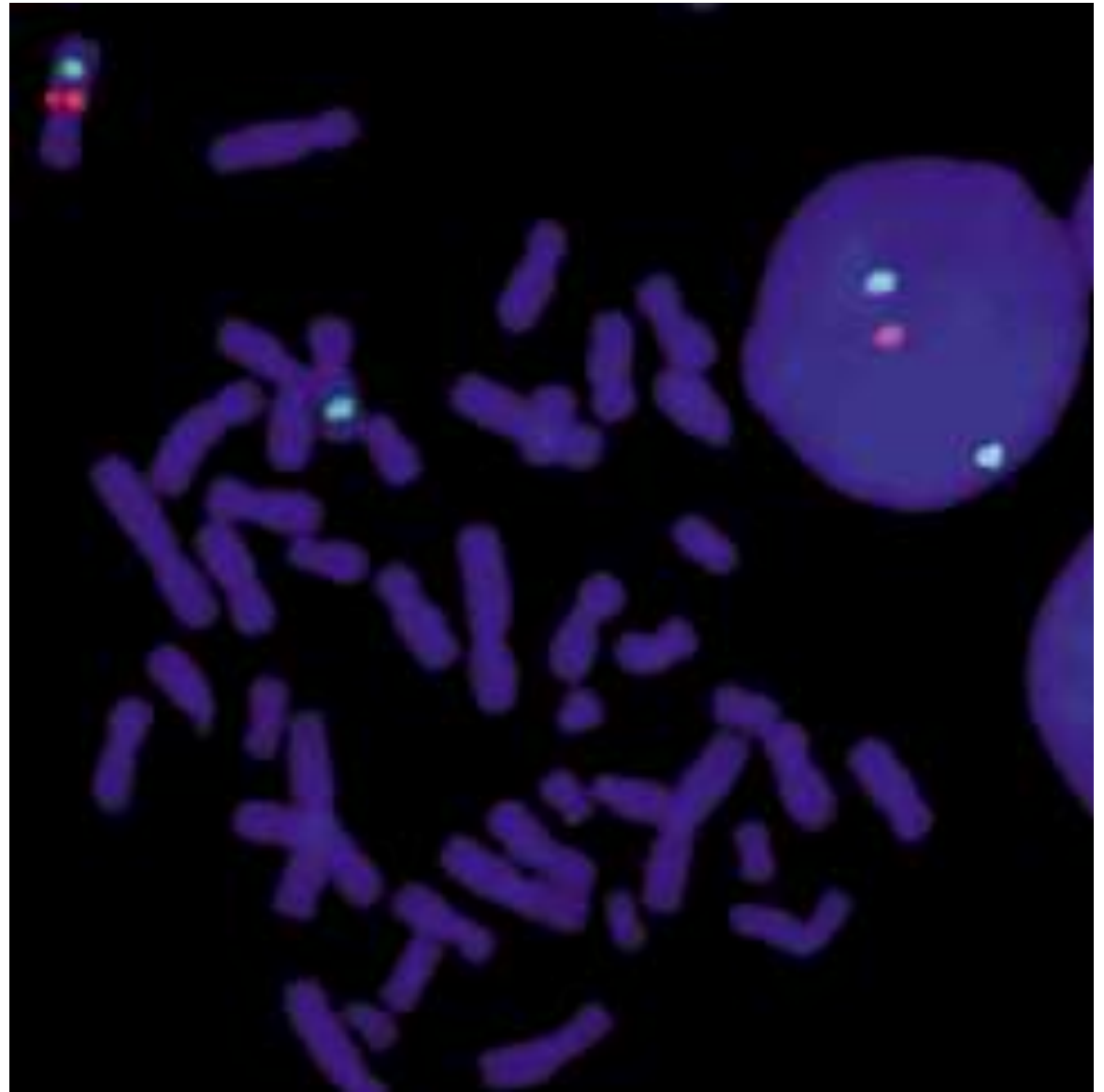
↓
desnaturalizar



Se puede realizar en núcleos interfásicos o en división

Se suelen utilizar simultáneamente distintas sondas, marcadas con fluorocromos de diferentes colores :

- Rojo: rodamina
- Verde: fluoresceína
- Azul: dapi

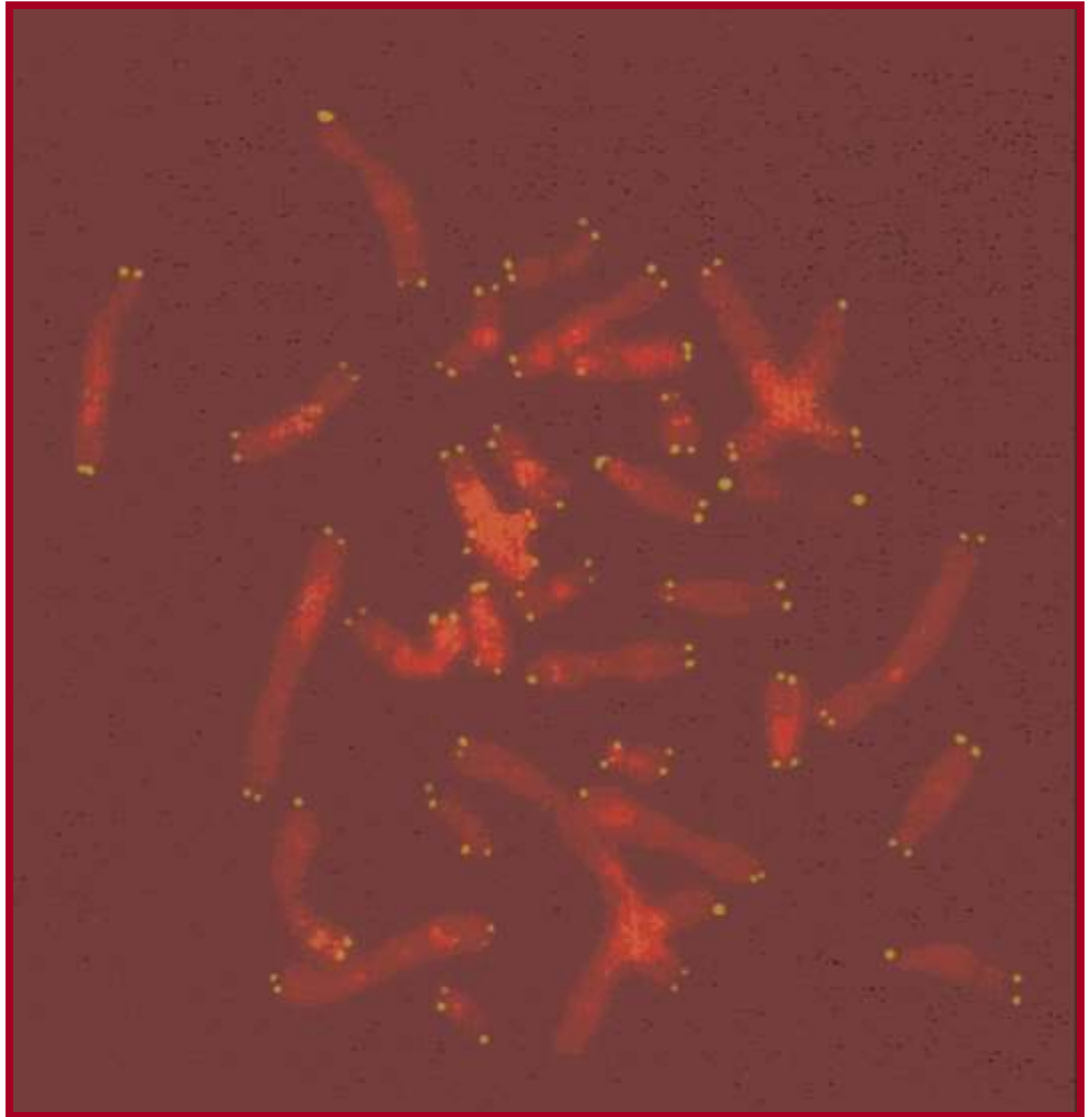


Tipos de sondas

- Especificas de regiones: **Sondas teloméricas**
Sondas centroméricas
- Especificas de cromosomas: **Pintados cromosómicos**
- Especificas de secuencia: **Sondas únicas, Sondas génicas**

Sondas teloméricas

Específicas de regiones



Sondas centroméricas

Repeticiones Alfoides:
(secuencias repetidas del
centrómero que son
específicas de cromosomas)

Útiles para localizar
cromosomas concretos

Centrómero del
cromosoma 21



Pintados cromosómicos

Específicas de cromosomas

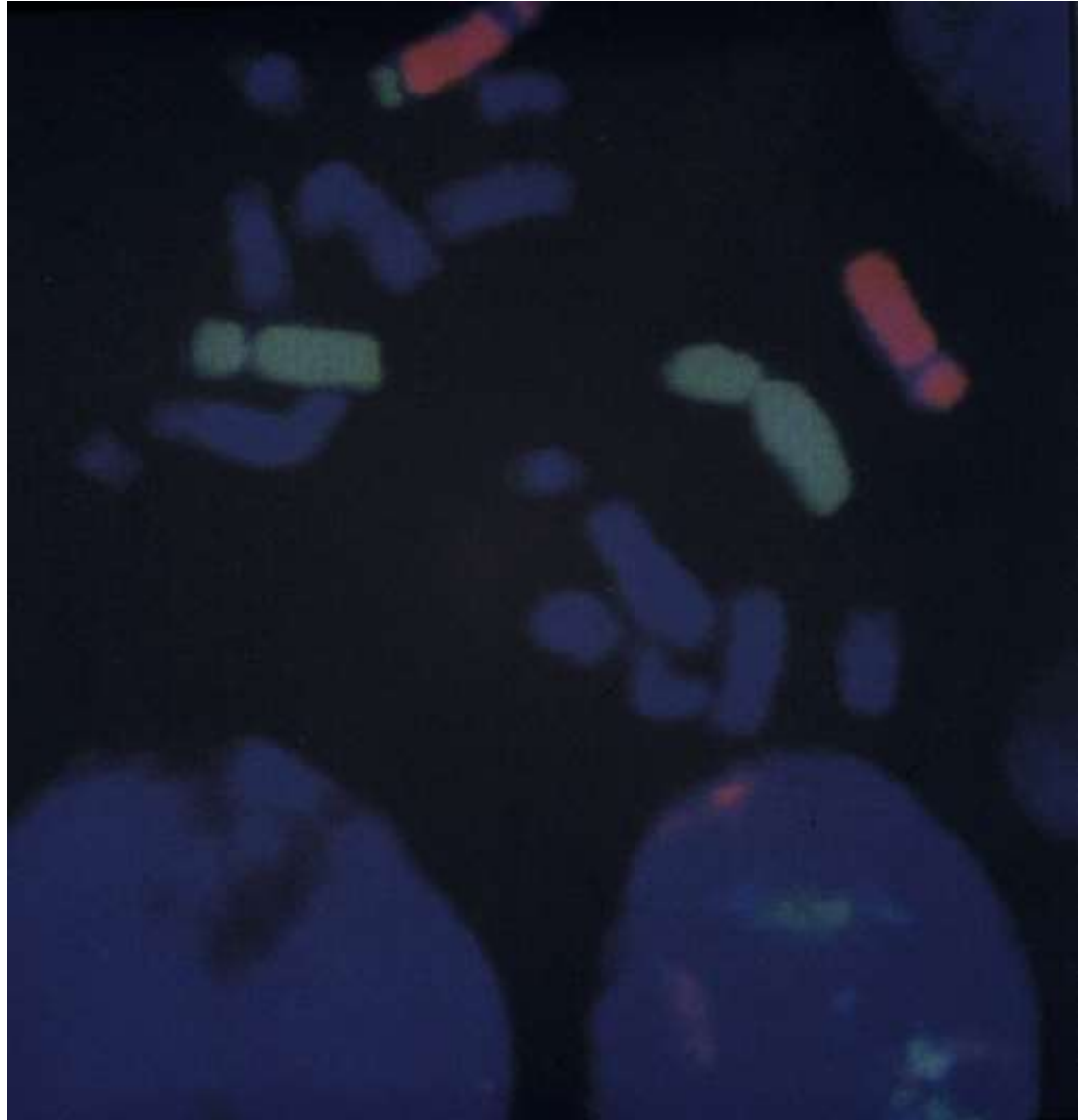
Pintan completamente el cromosoma elegido

útiles en la detección de reorganizaciones cromosómicas

t (2;8)

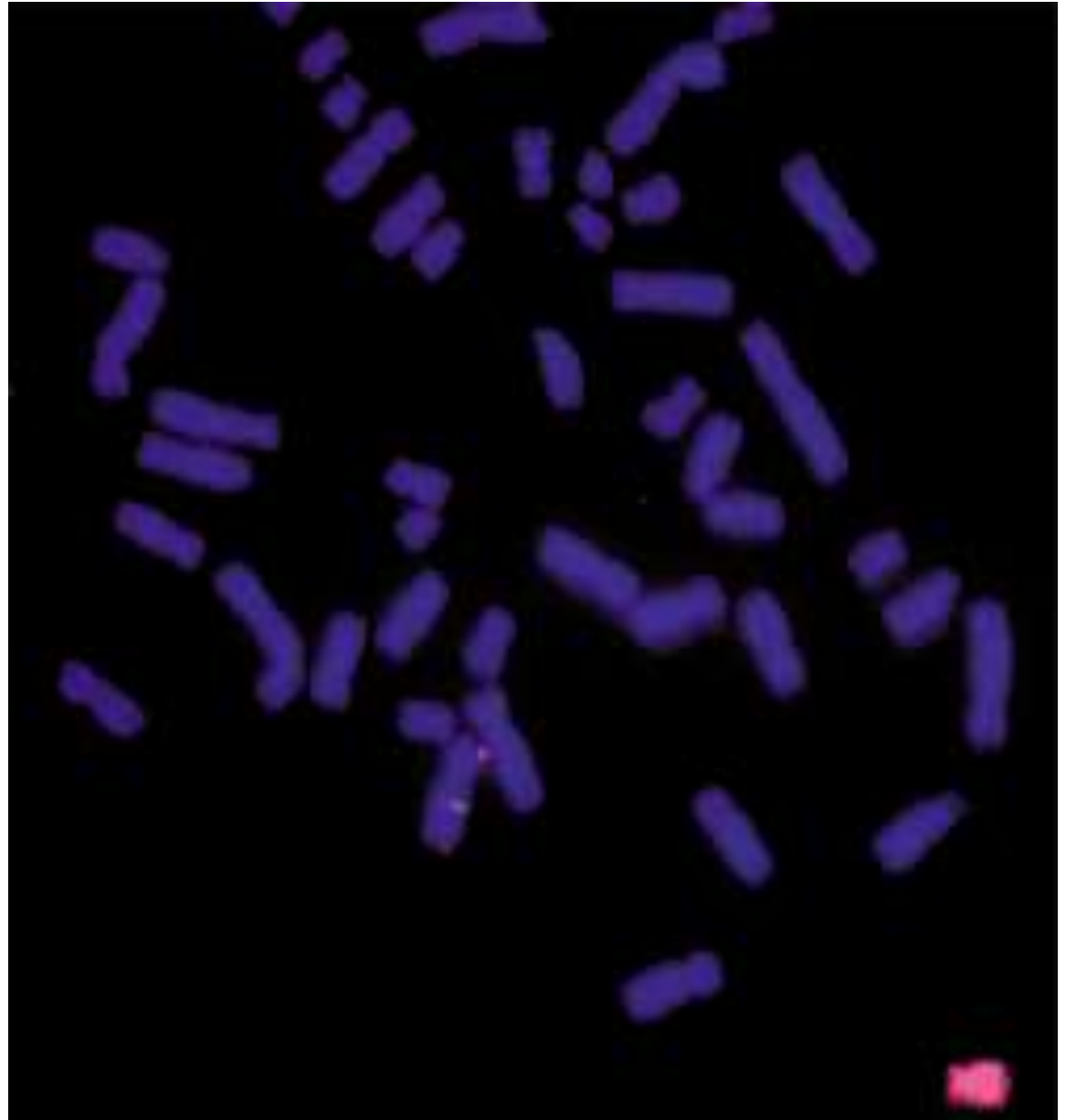
cromosoma 8 rosa

cromosoma 2 verde



Pintados cromosómicos

Específicas de cromosomas

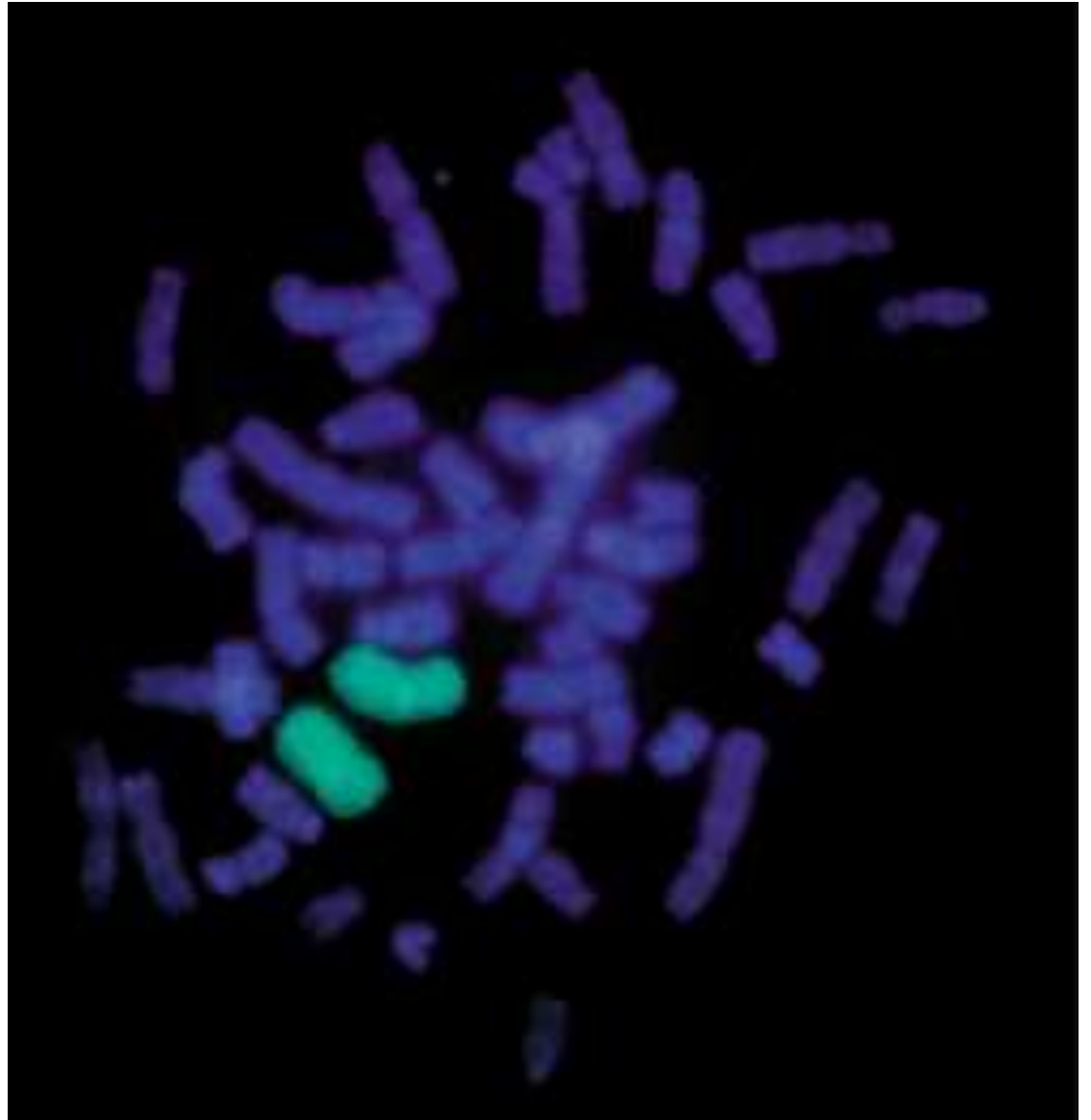


pintado del cromosoma Y
en rosa, el resto con dapi

Pintados cromosómicos

Específicas de cromosomas

Pintado del
cromosoma X

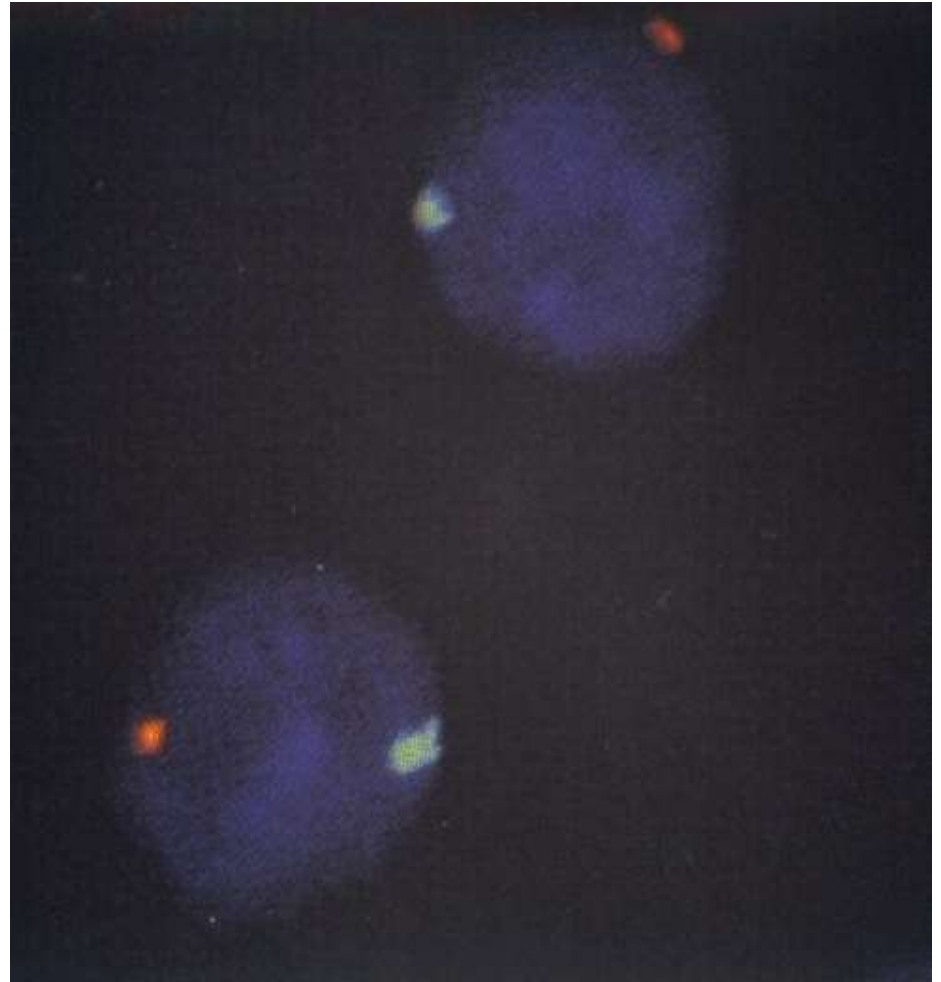


Pintados cromosómicos

Específicas de cromosomas

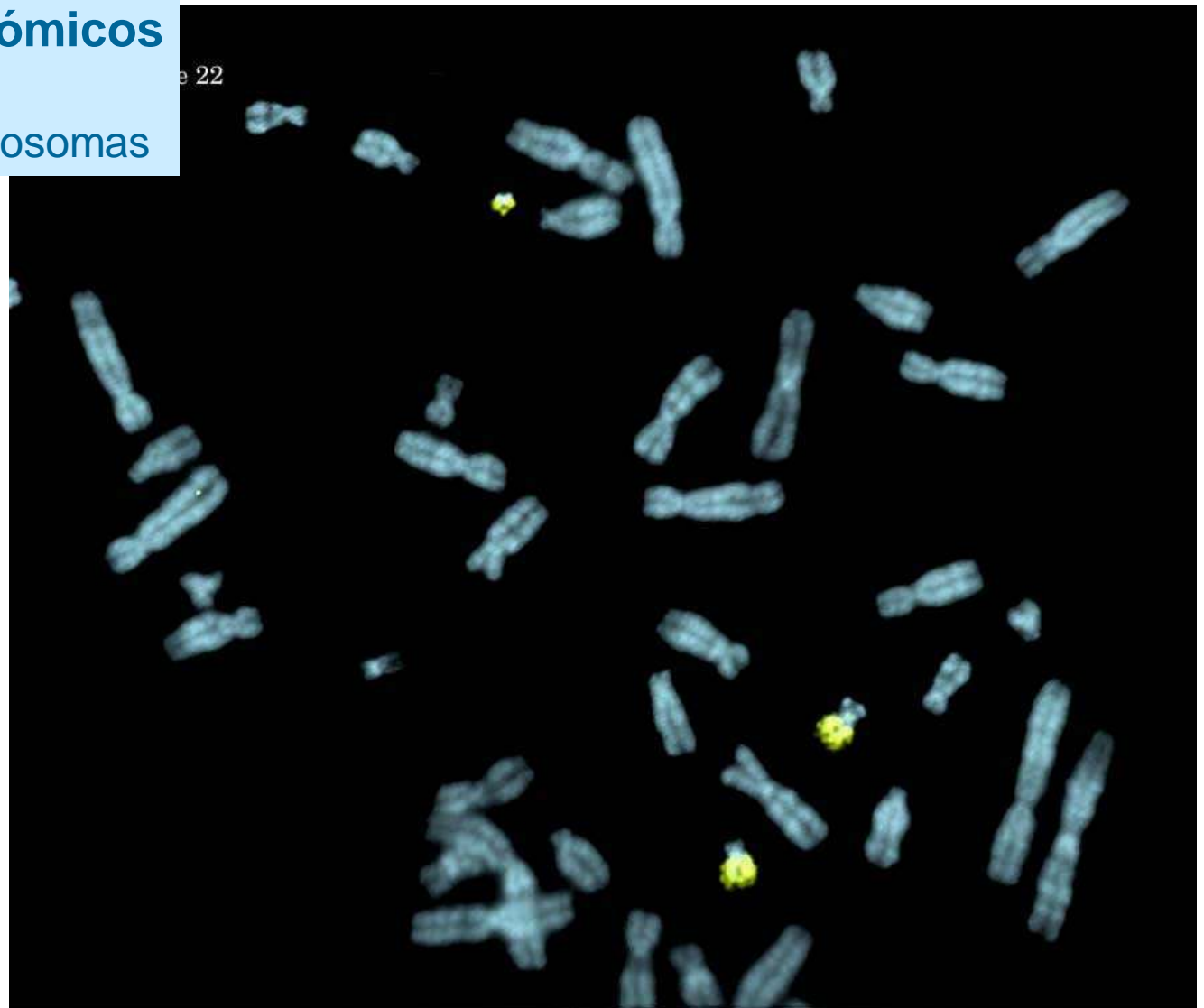
cromosoma X rosa

cromosoma Y verde



Pintados cromosómicos

Específicas de cromosomas



Pintado del
cromosoma 22

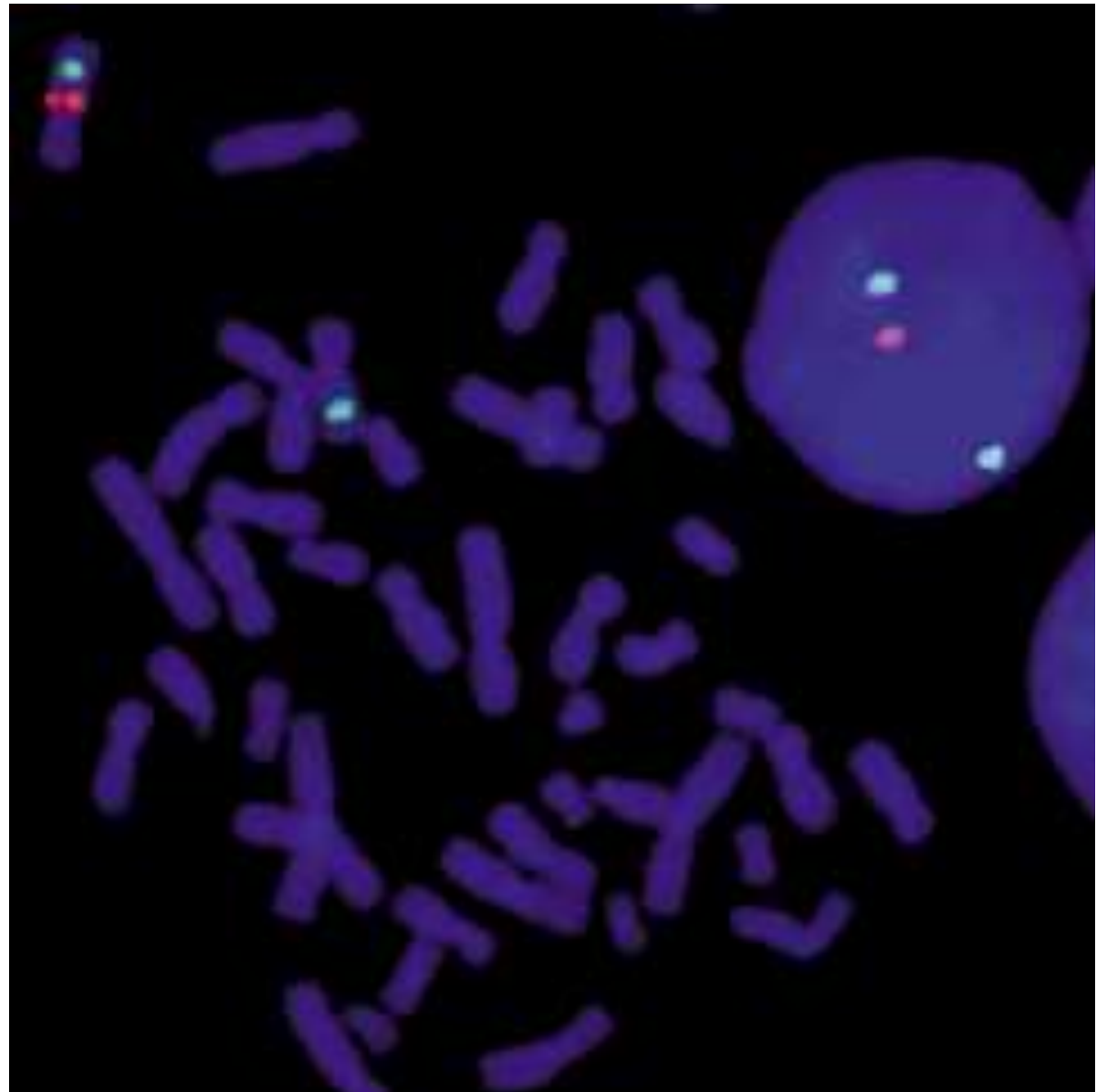
Sondas específicas de secuencia

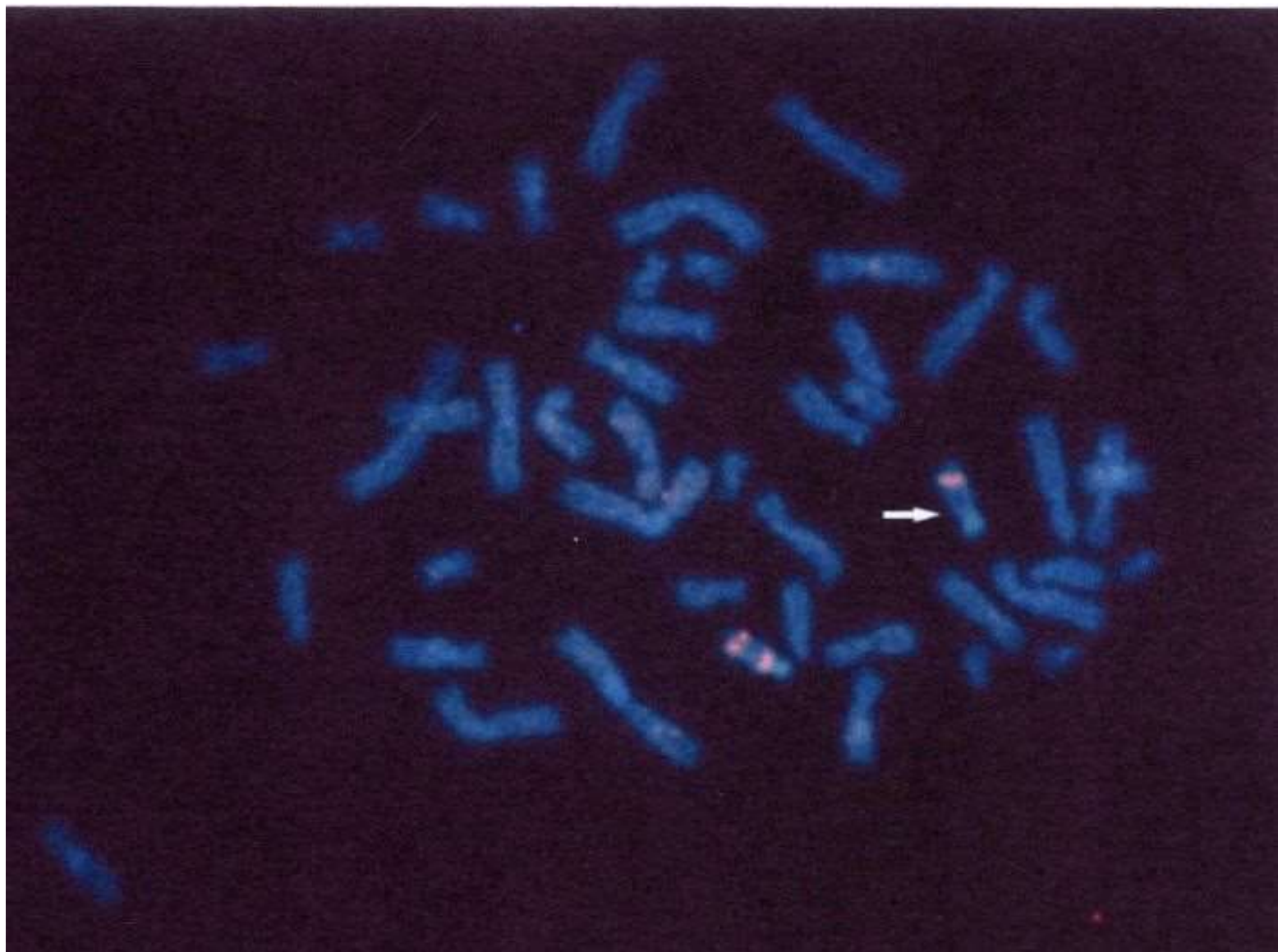
Dirigidas a una región concreta

útiles para detectar síndromes por microdelección

7q11.23 rojo, centrómero cromosoma 7 verde

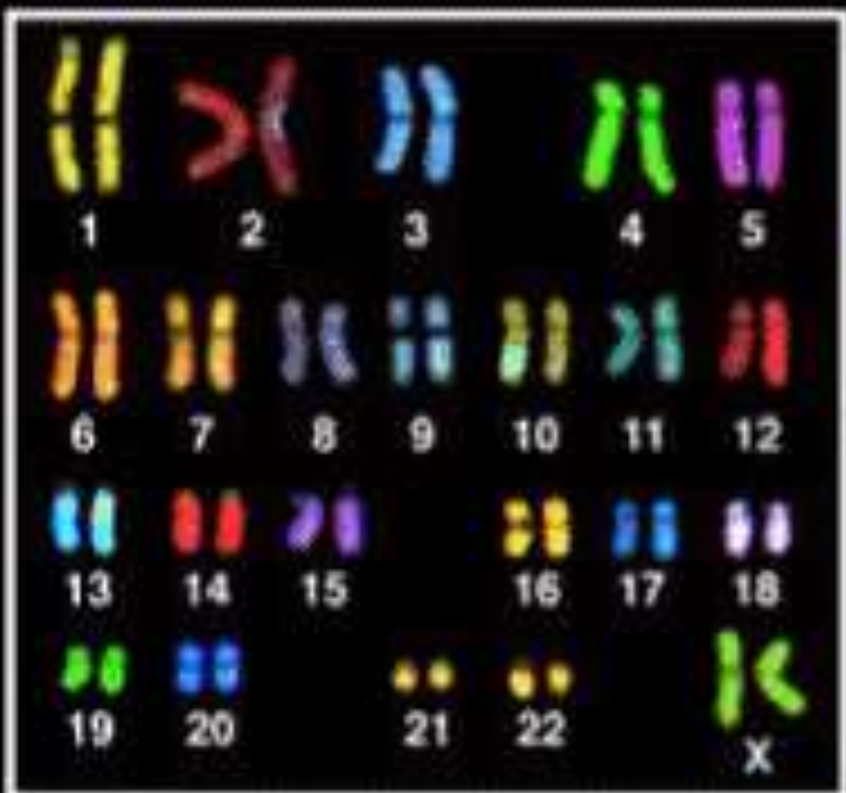
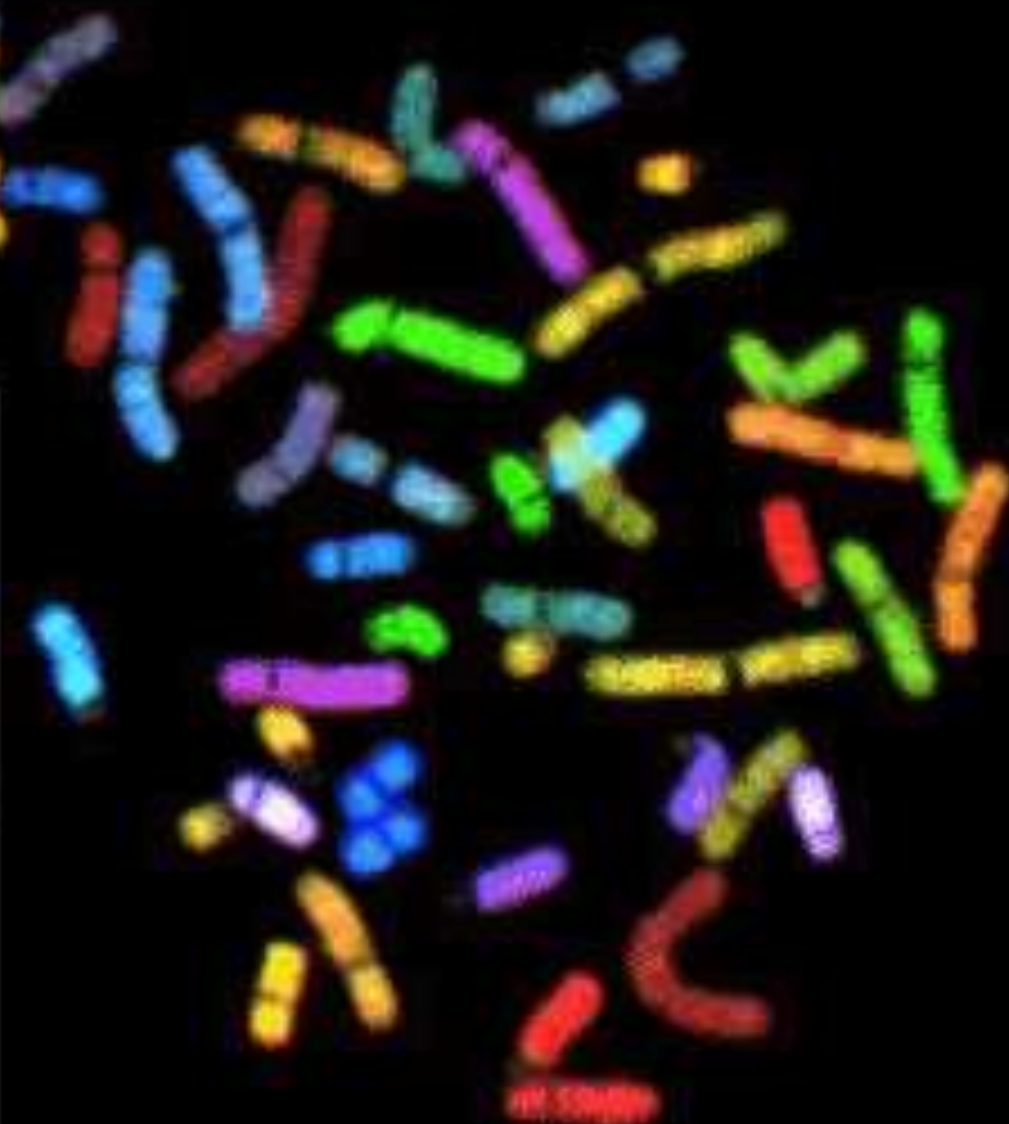
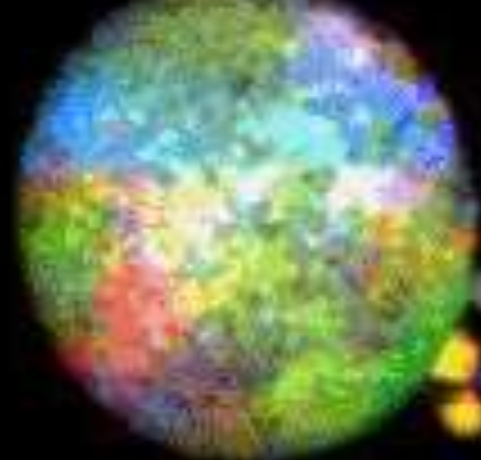
Síndrome de Williams (del 7q11.23)





Cariotipo Espectral Multicolor (SKY)

- Hibridación in situ con sondas específicas de cada cromosoma (El aparato es capaz de diferenciar 24 colores).
- Identificación unívoca del material cromosómico reordenado en translocaciones y marcadores complejos



Hibridación Genómica Comparada (CGH)

- Detección de pérdidas y ganancias genómicas por hibridación competitiva de ADN tumoral y normal de referencia

Utilidad clínica de la citogenética

- Uno de cada 150 o 160 recién nacidos tiene una anomalía cromosómica
- Al menos el 50% de los abortos espontáneos durante el primer trimestre tiene una anomalía cromosómica
- Aproximadamente el 2% de los embarazos en mujeres de más de 35 años tiene una anomalía cromosómica