

# 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

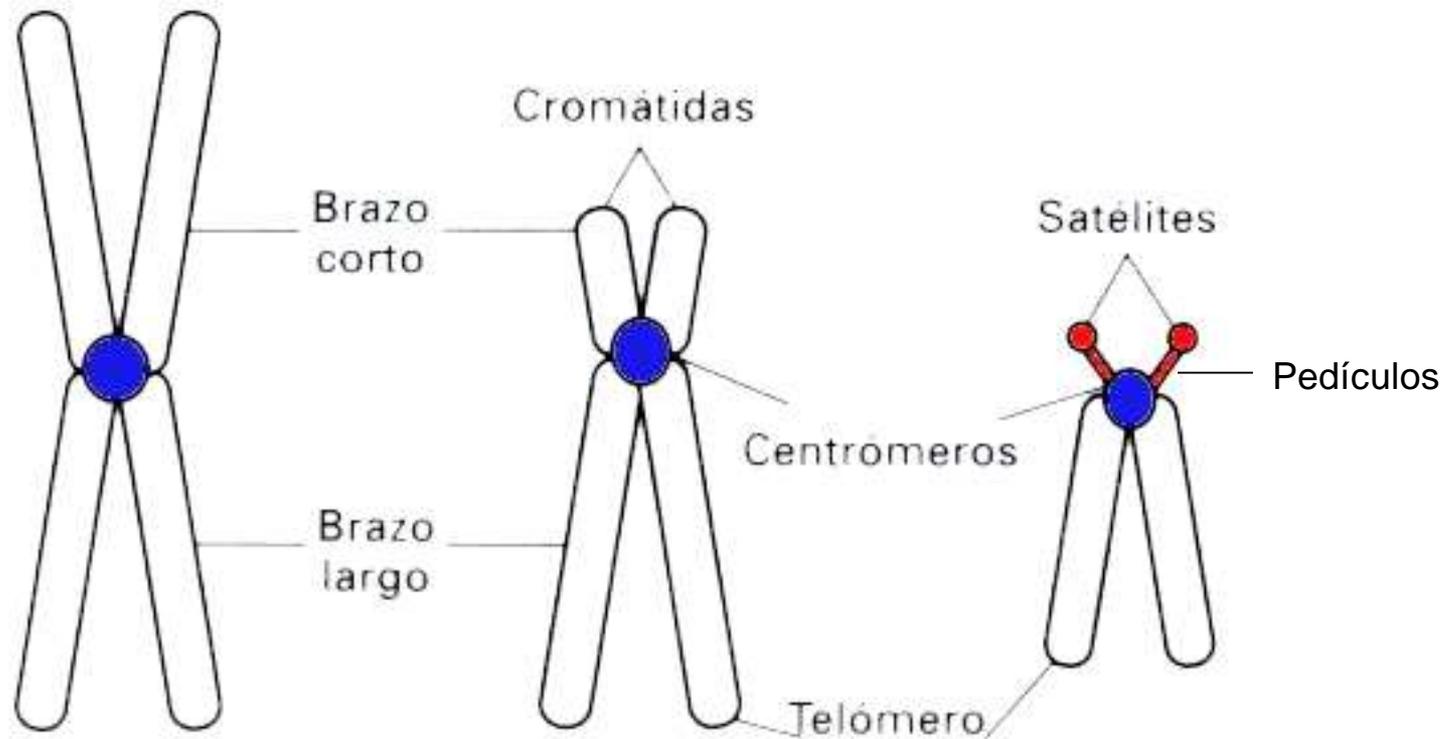
**1956 Tjio y Levan** Demuestran que el núcleo de las células humanas hay 46 cromosomas

**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

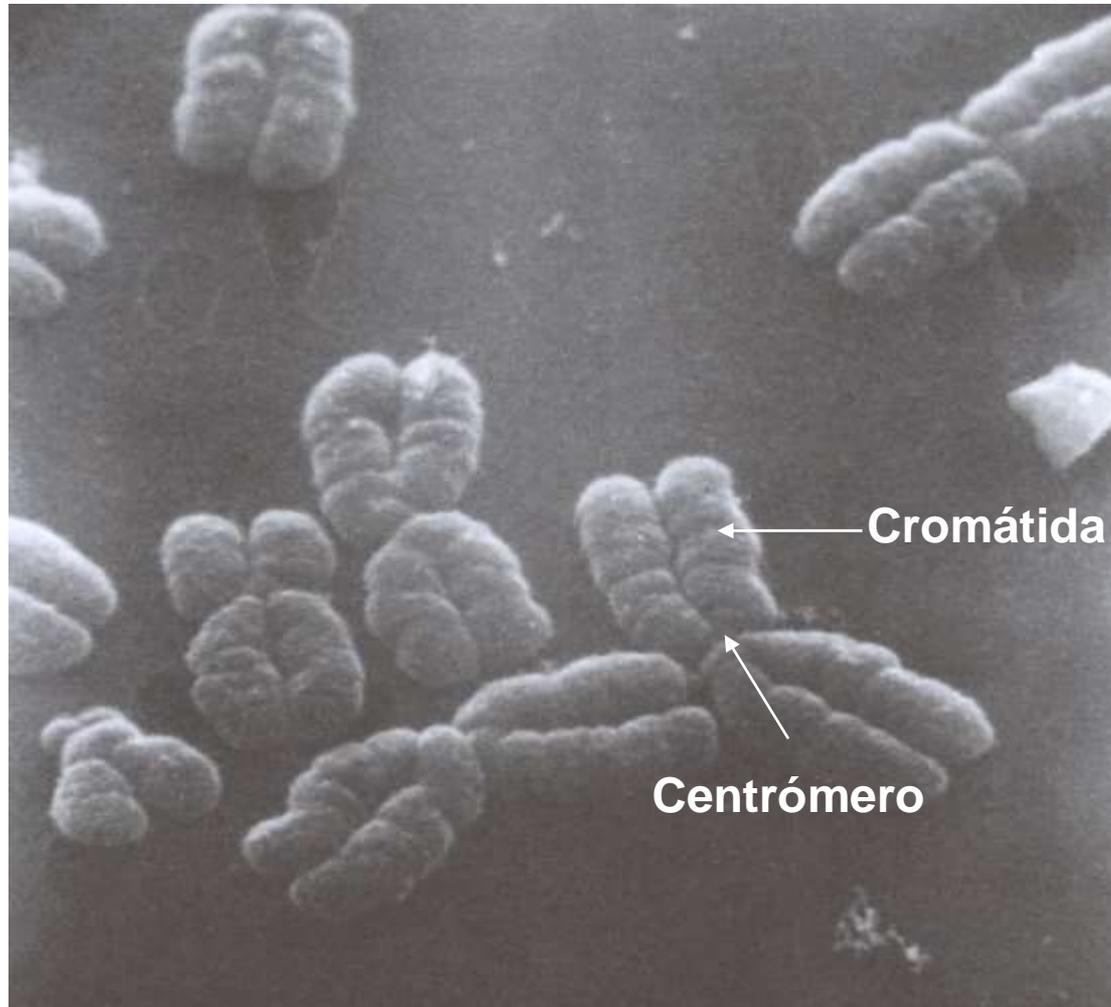


Metacéntrico

Submetacéntrico

Acrocéntrico

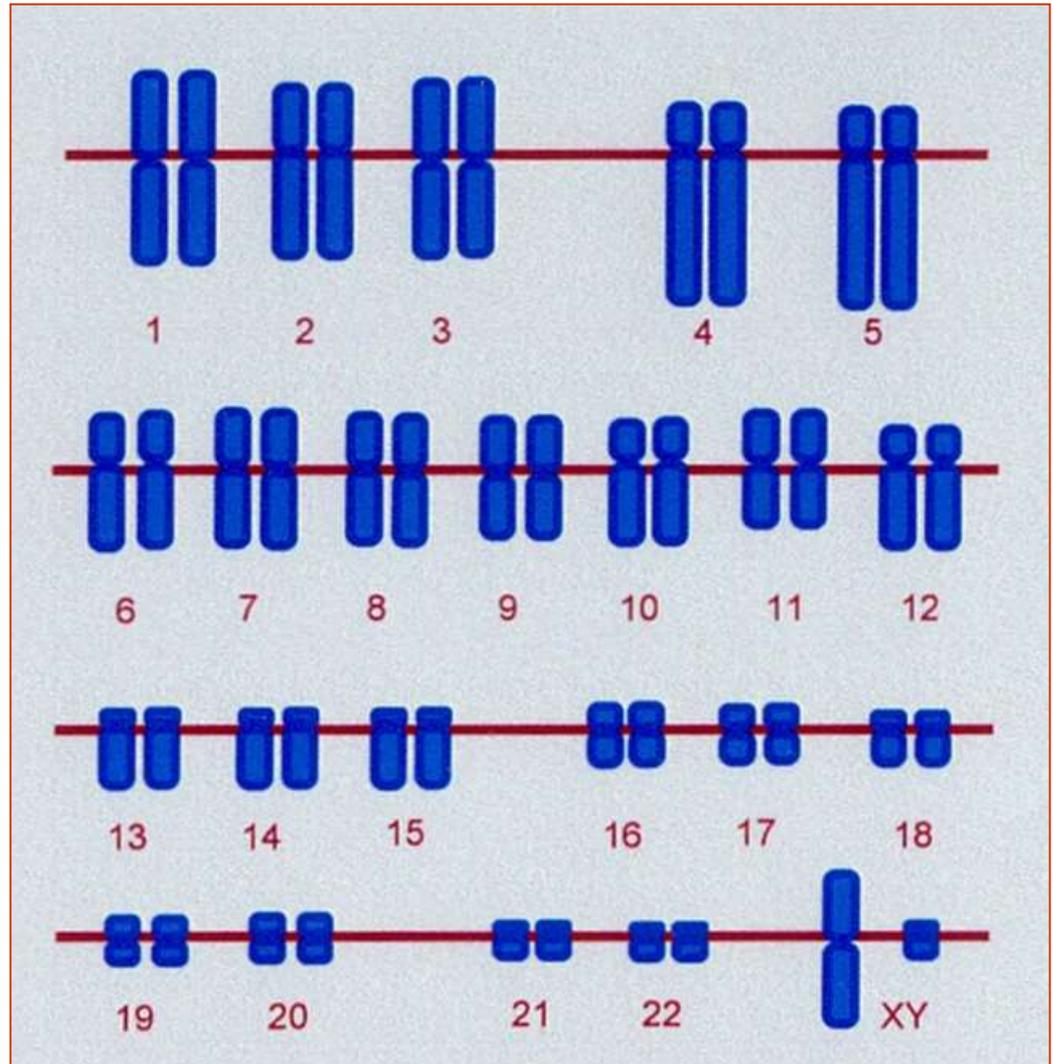
# Cromosoma metafásico



**Cariotipo:** conjunto de cromosomas que caracteriza a una especie.

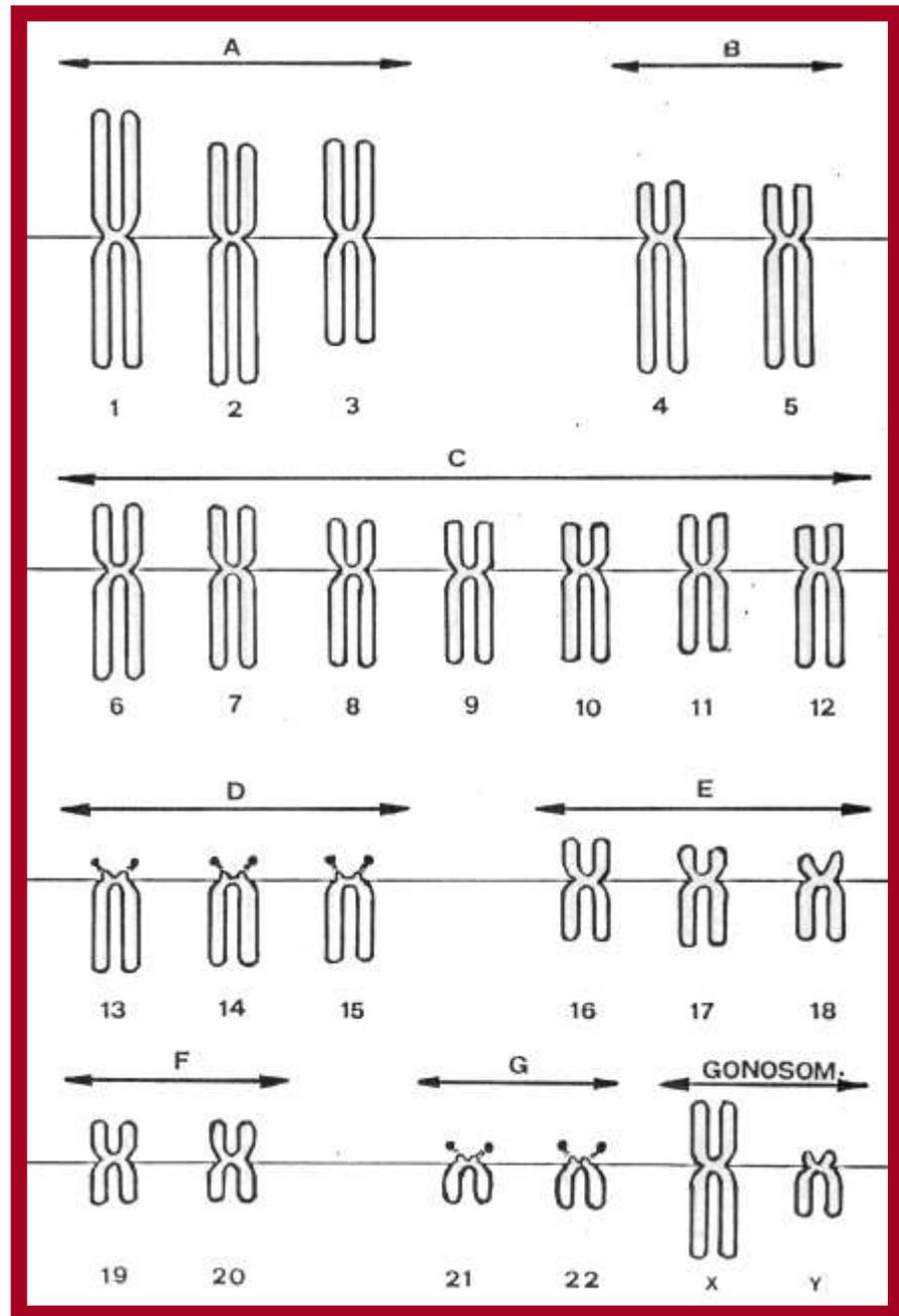
**Cariotipo humano**  
46 cromosomas  
23 pares de homólogos

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

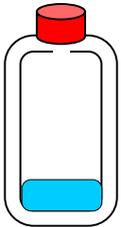
**Directo:**  
**Indirecto:** cultivo antes del procesamiento

## Procesamiento





5 ml de sangre venosa



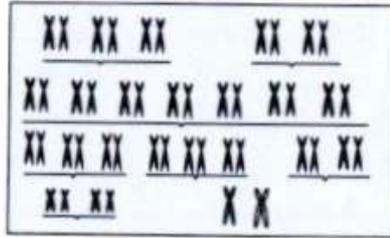
Sembrar en 125 ml de RPMI + fitohemaglutinina



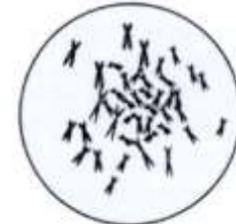
Incubar a 37 °C durante 3 días



Añadir colchicina



Cariotipo



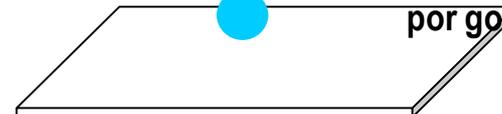
Fotografía



Tinción



Dispersión celular sobre un portaobjetos por goteo



Fijación de las células Carnoy



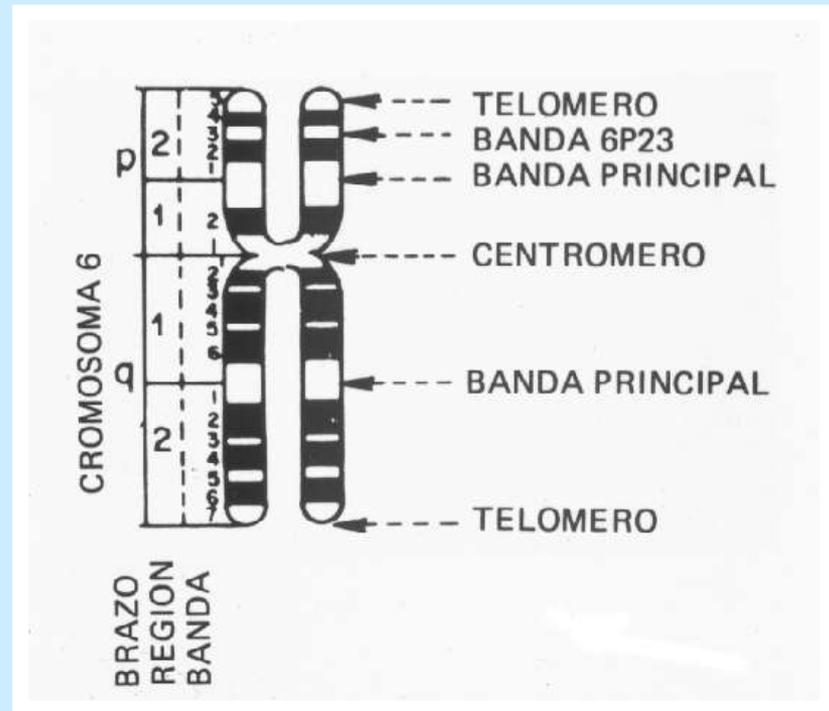
Solución hipotónica salina  
CIK 0,075M

# Criterios de clasificación

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

- París 1971

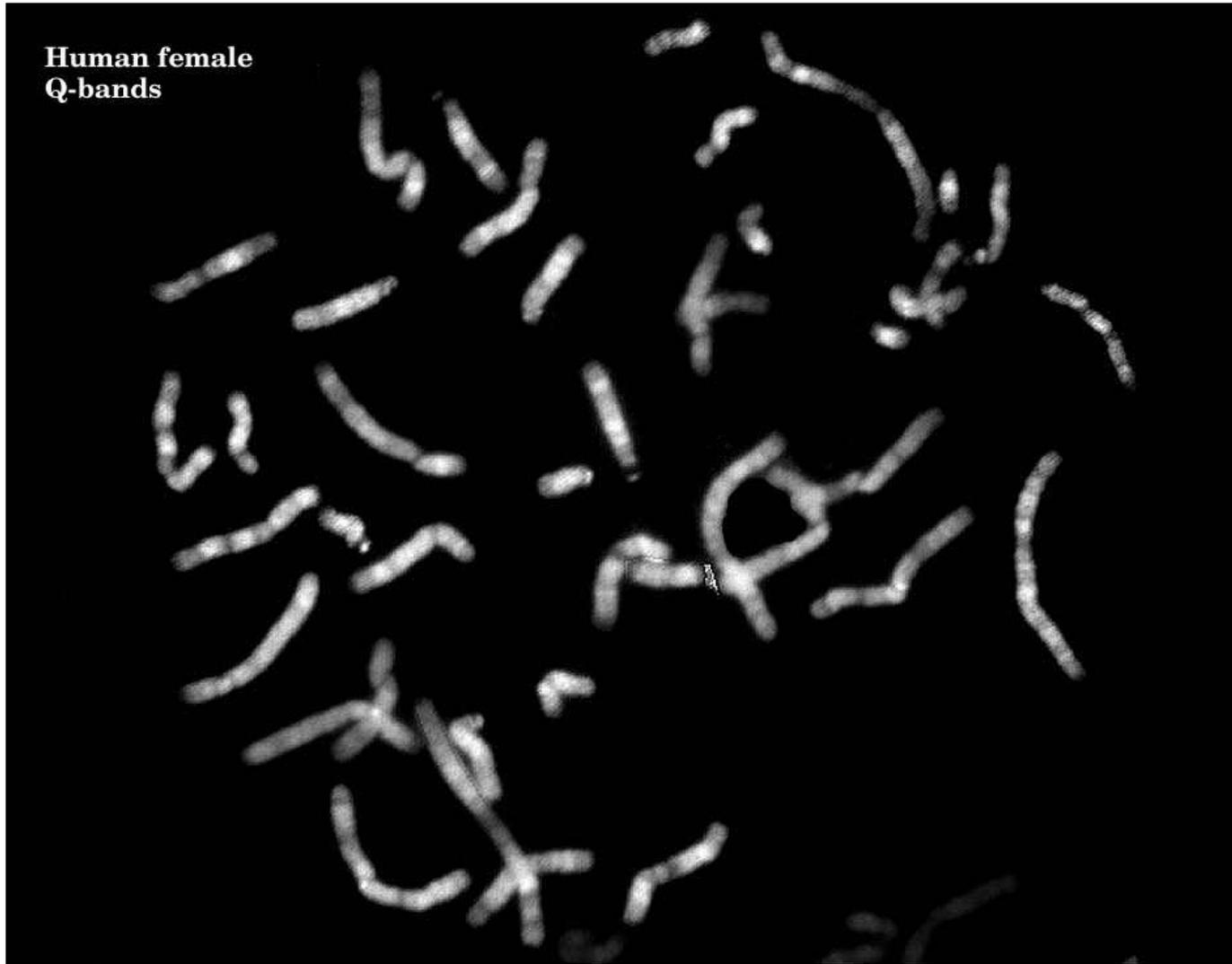
- Patrón específico de bandas



## Bandas Q:

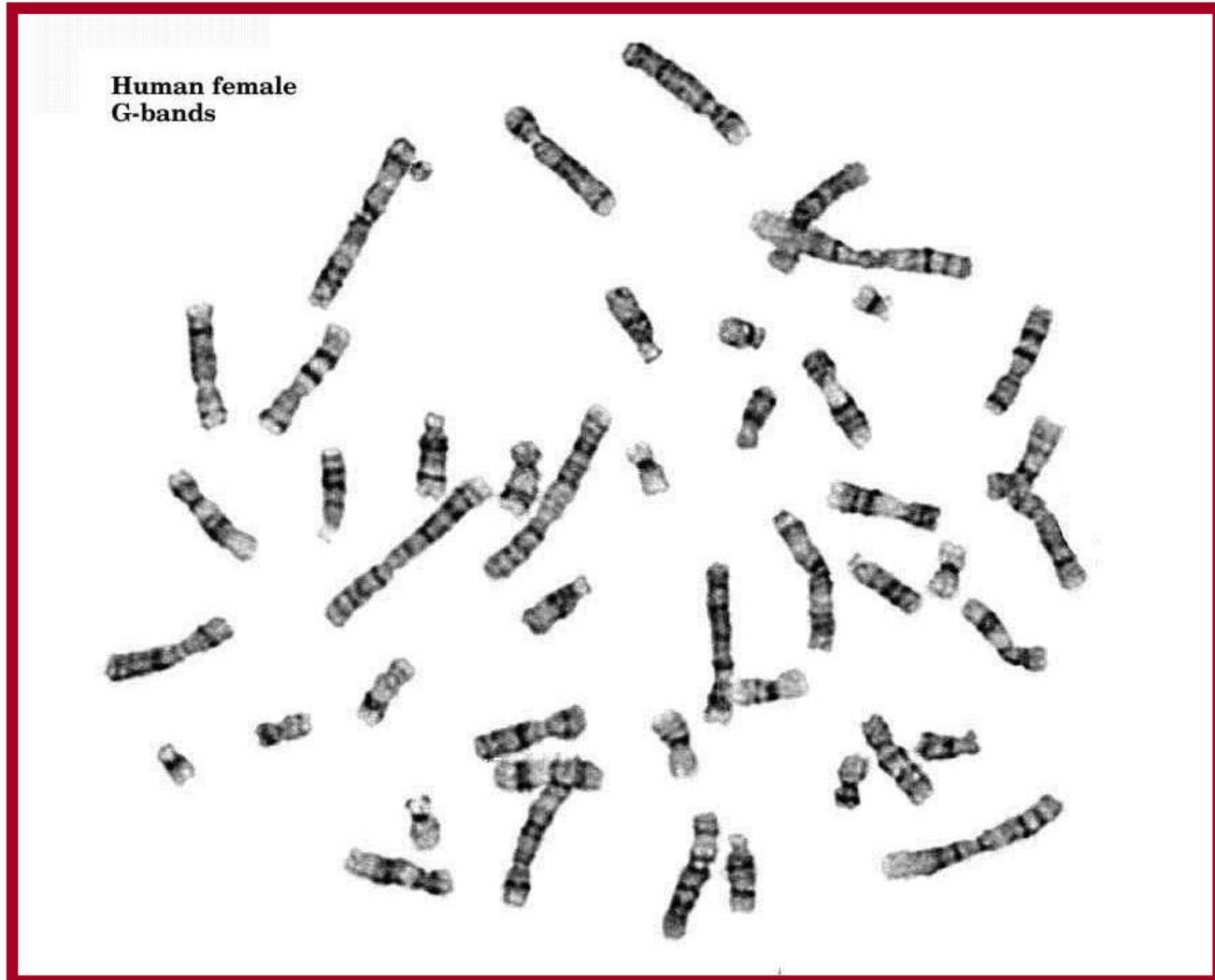
(Casperson y cols., 1970)

Tratamiento con Quinacrina  
Regiones ricas en AT, cromosoma Y

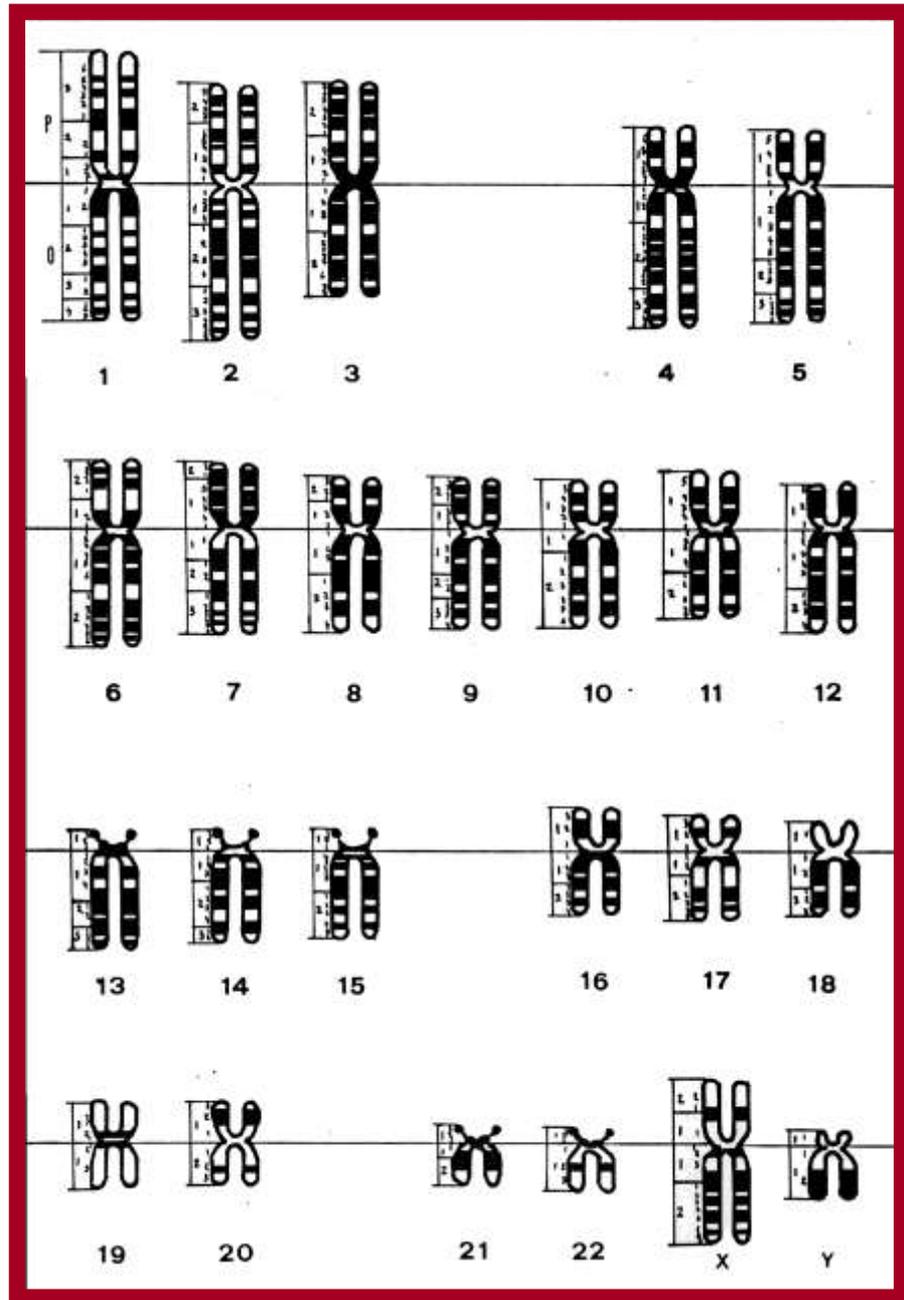


## Bandas G: (Seabright, 1971)

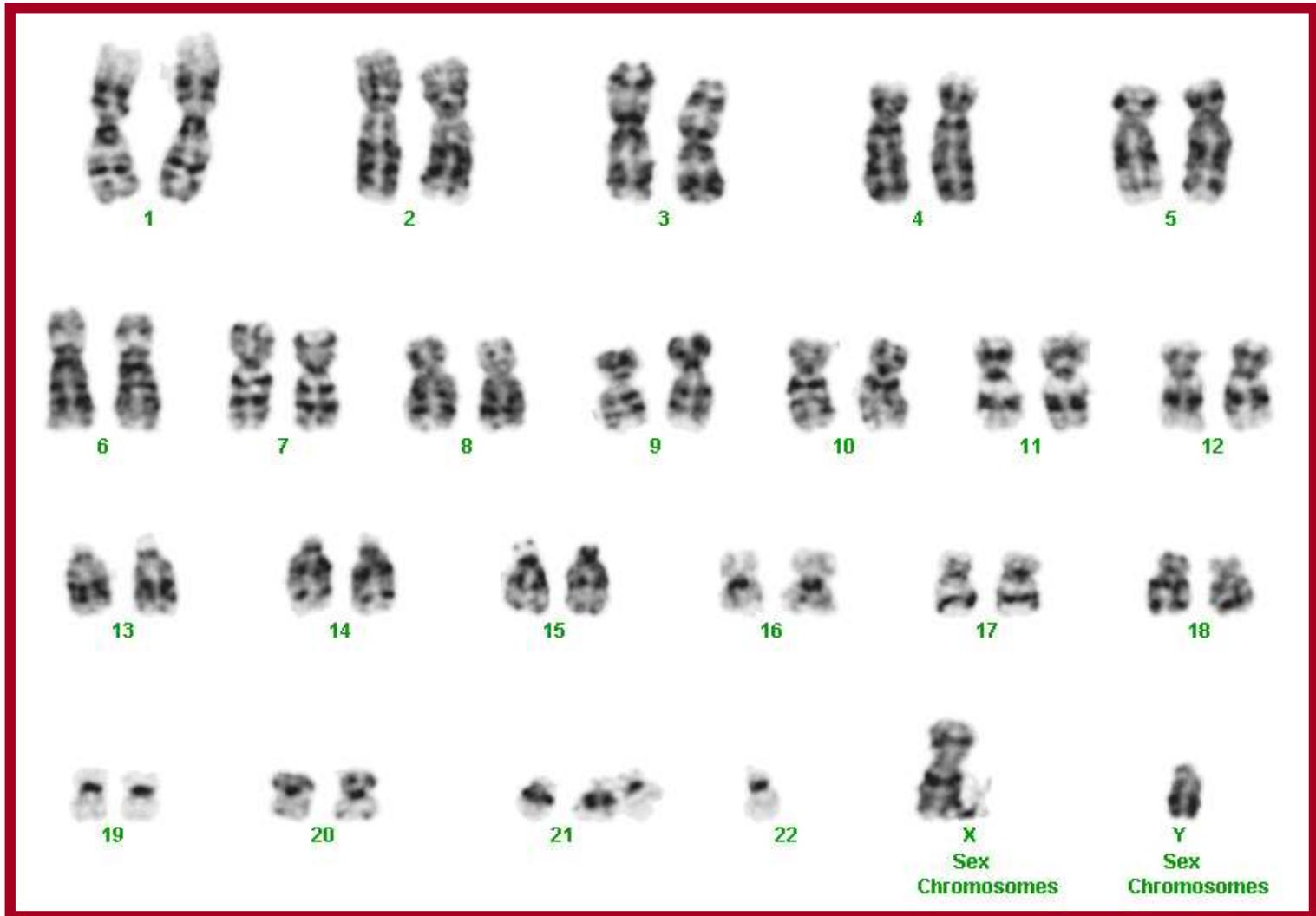
Tratamiento con tripsina + Giemsa  
Regiones ricas en AT (bandas oscuras)



# Patrón de Bandas Q y G (1971)



# Idiograma con bandas G

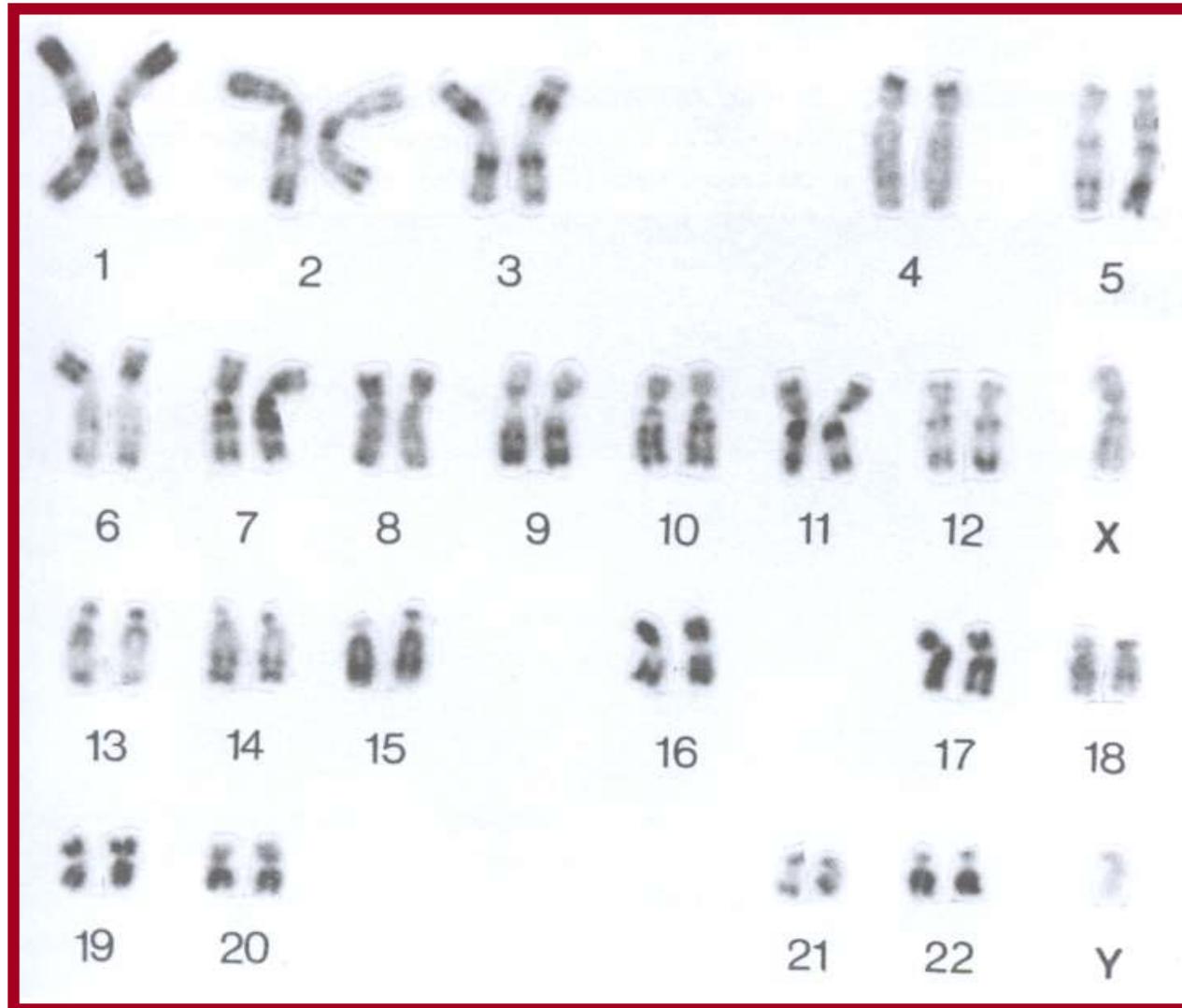


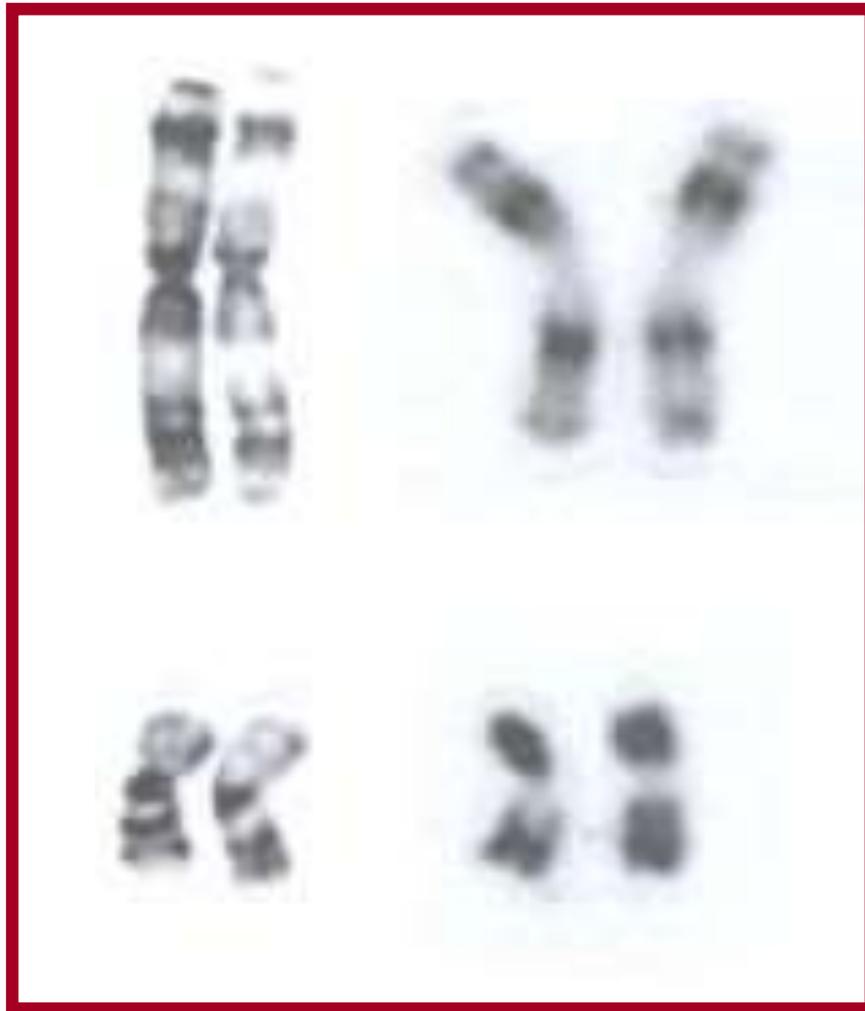
Fórmula cromosómica: 46, XY

## 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)**

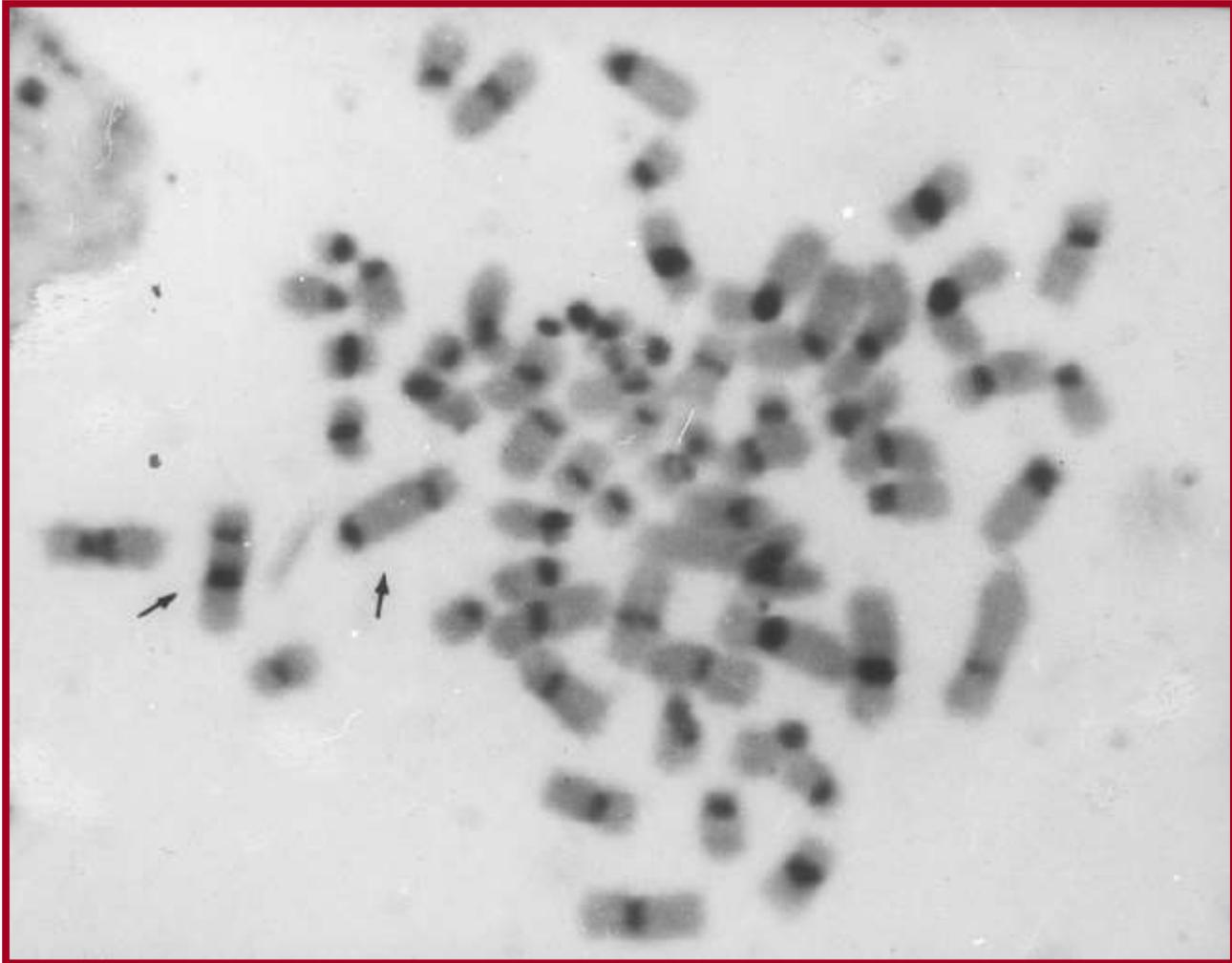
# Bandas C:

(Arrighi y Hsu, 1971)

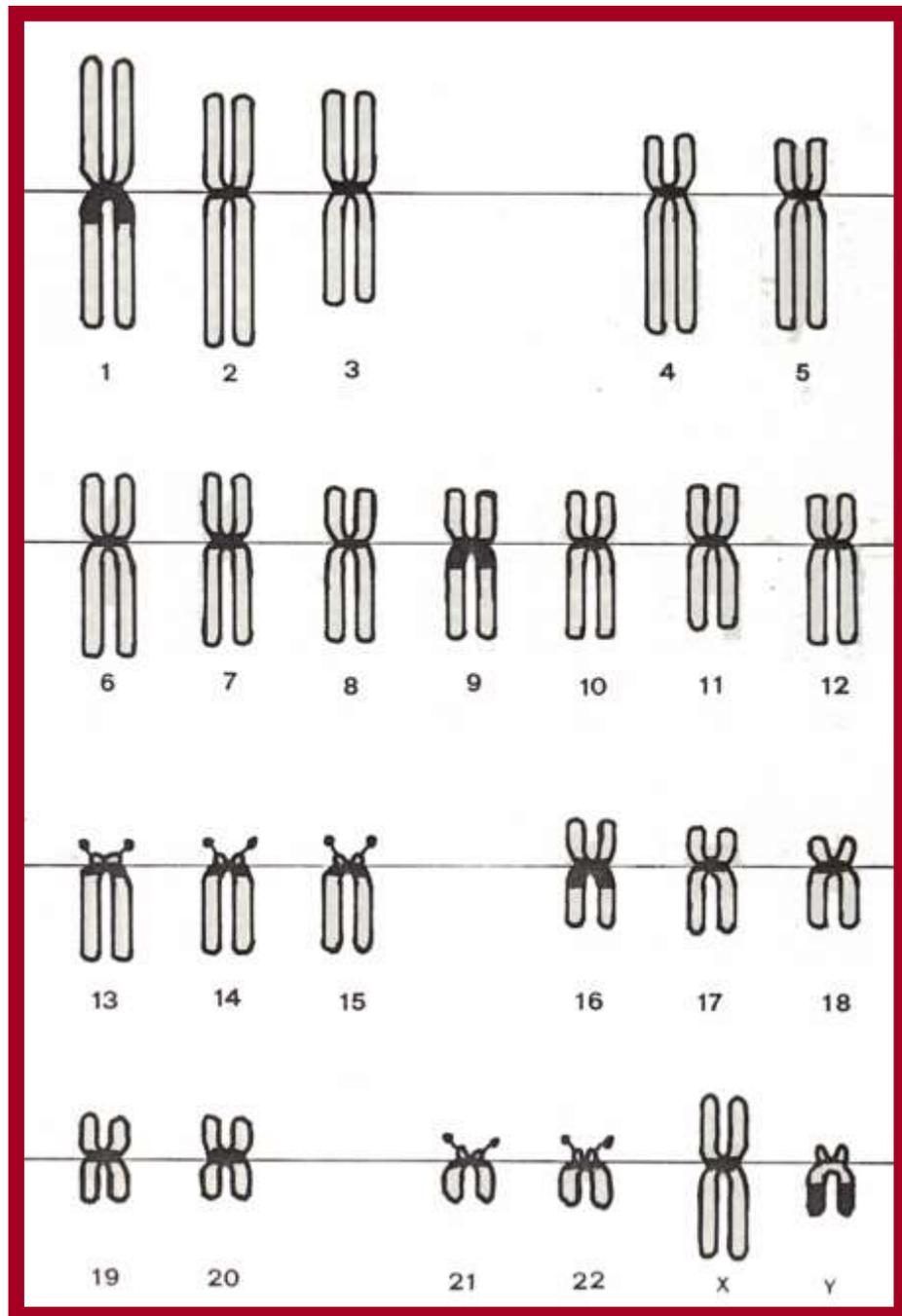
Heterocromatina constitutiva



## Bandas C



# Patrón de Bandas C (1971)



## Idiograma con bandas C



Fórmula cromosómica: 47, XY, +13

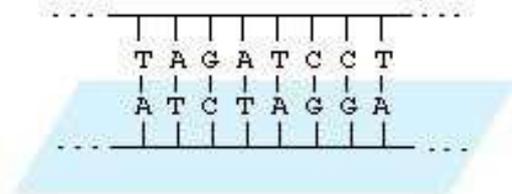
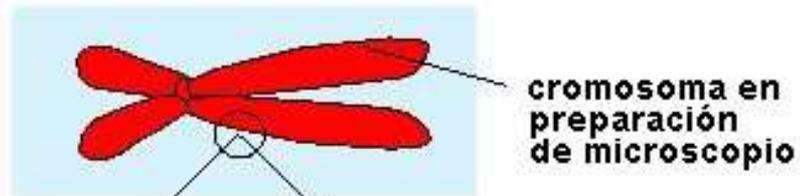
## Limitaciones de la Citogenética Convencional :

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

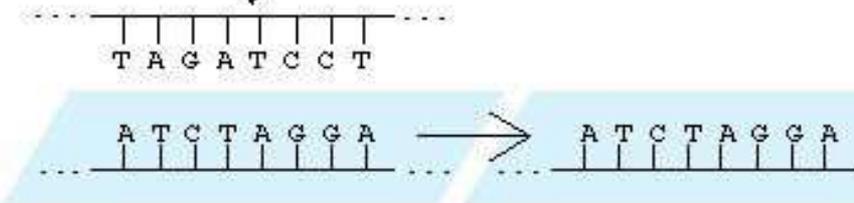
## Alternativa : Citogenética Molecular

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)



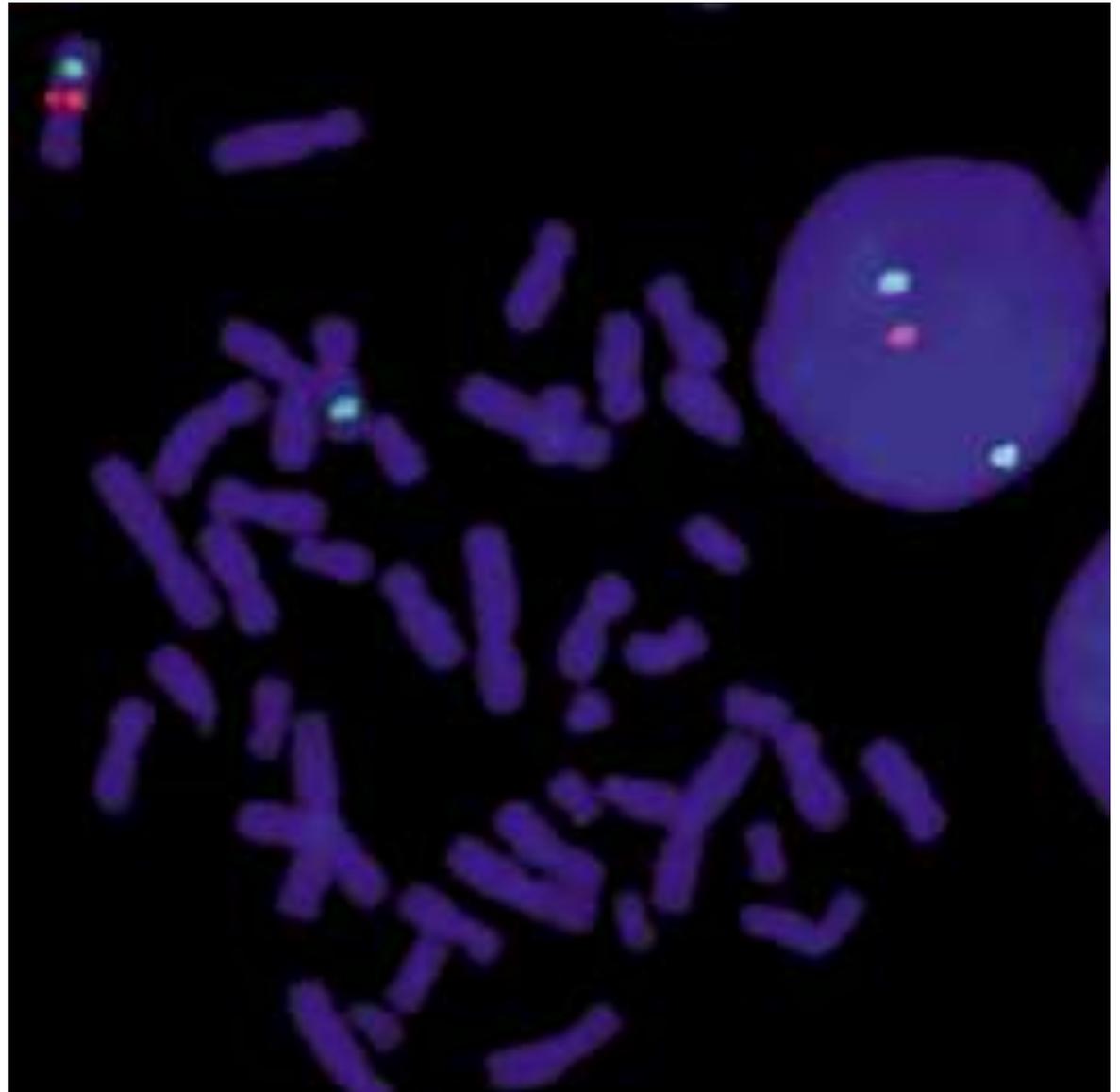
↓  
**desnaturalizar**



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



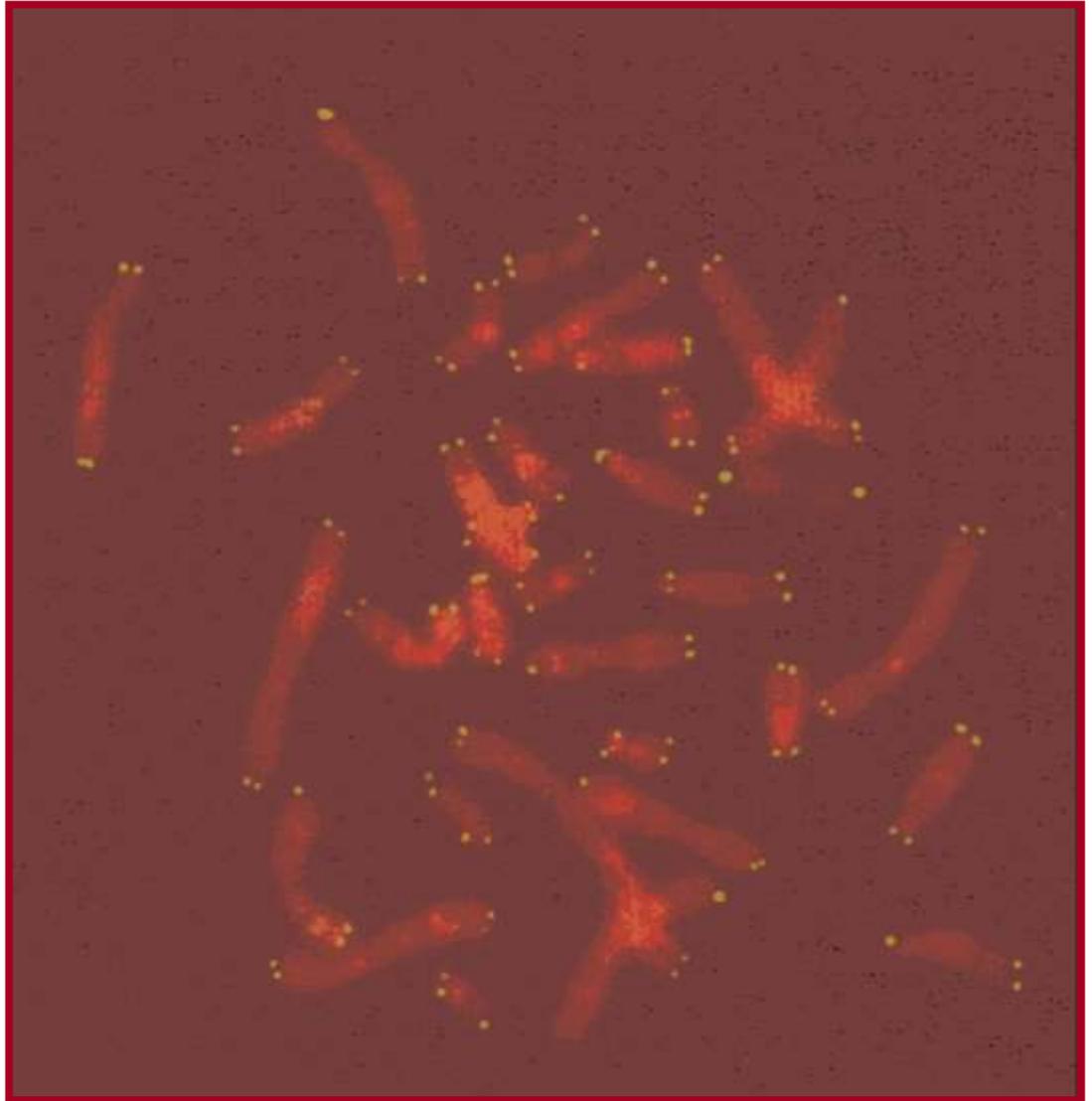


## Tipos de sondas

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

## Sondas teloméricas

Específicas de regiones

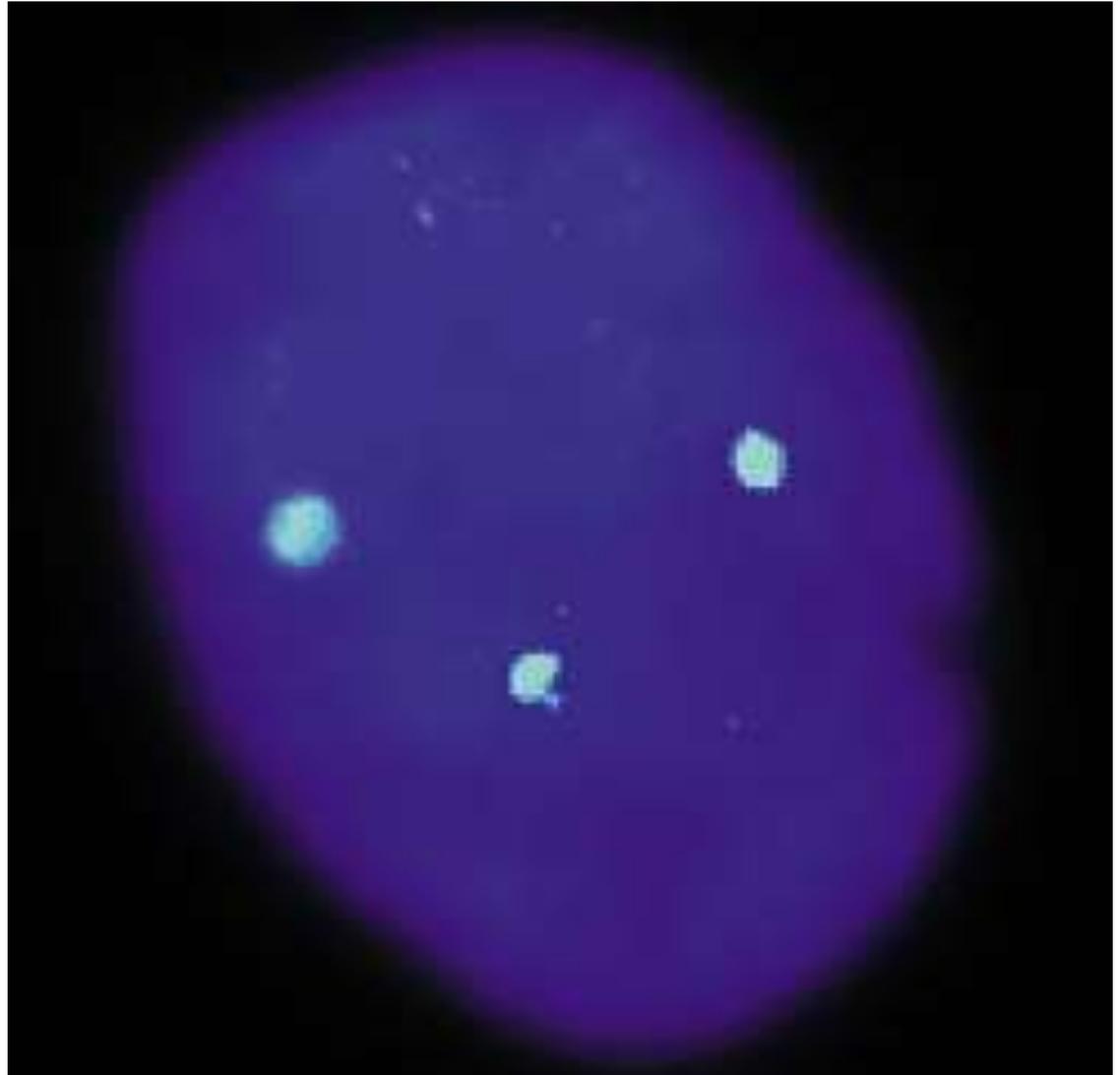


## Sondas centroméricas

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

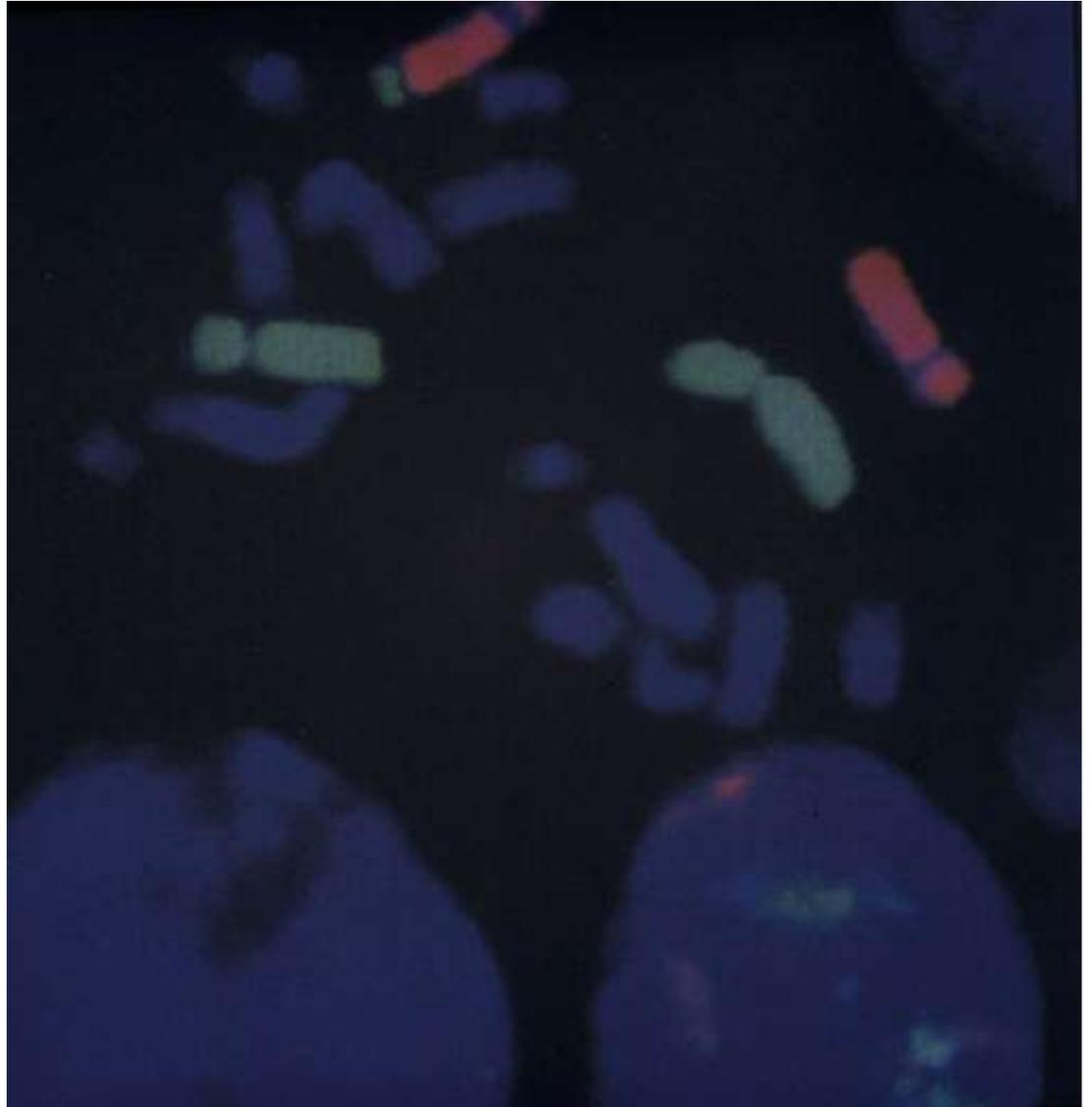
Pintan completamente el cromosoma elegido

útiles en la detección de reorganizaciones cromosómicas

t (2;8)

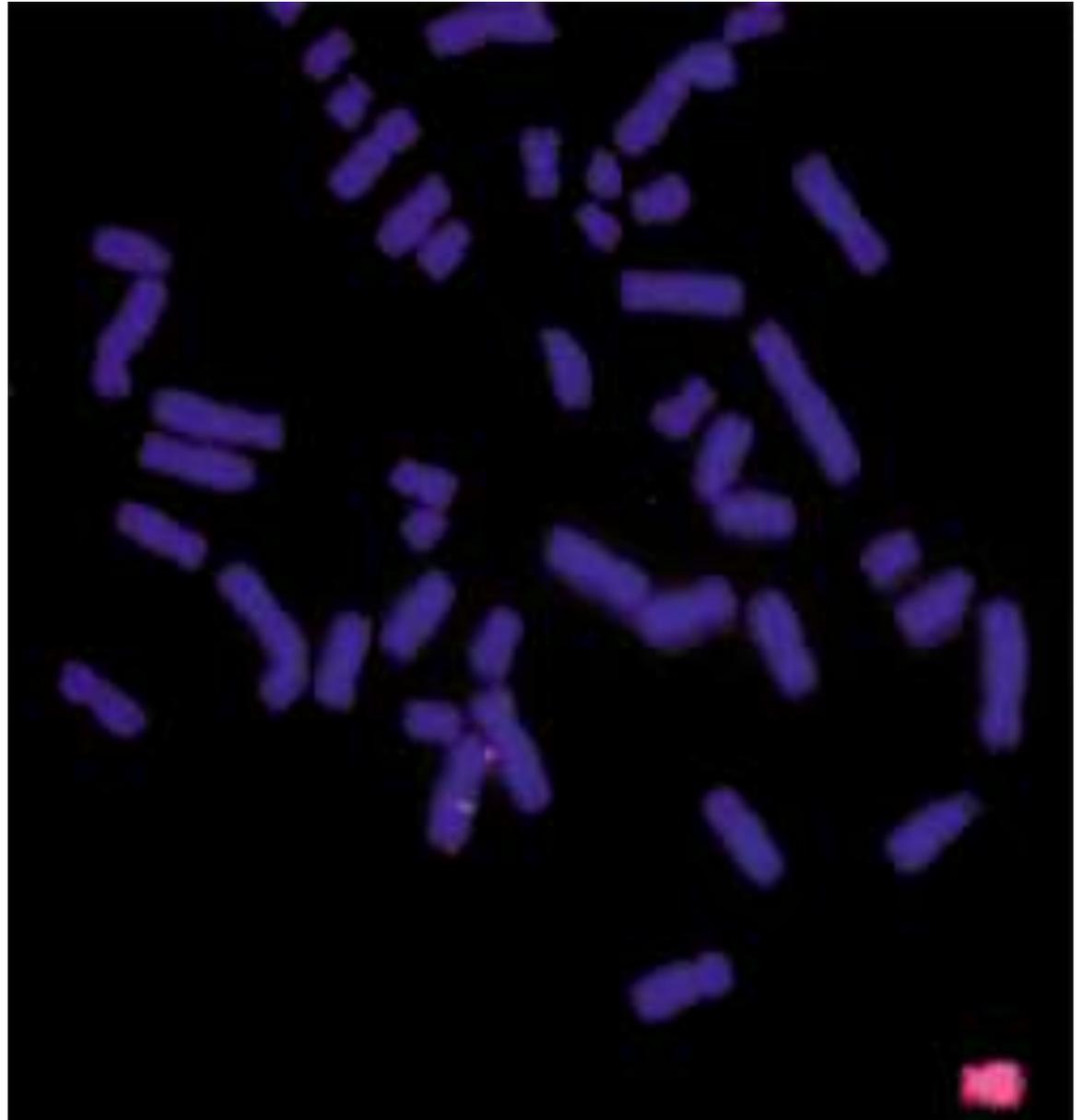
cromosoma 8 rosa

cromosoma 2 verde



## Pintados cromosómicos

Específicas de cromosomas

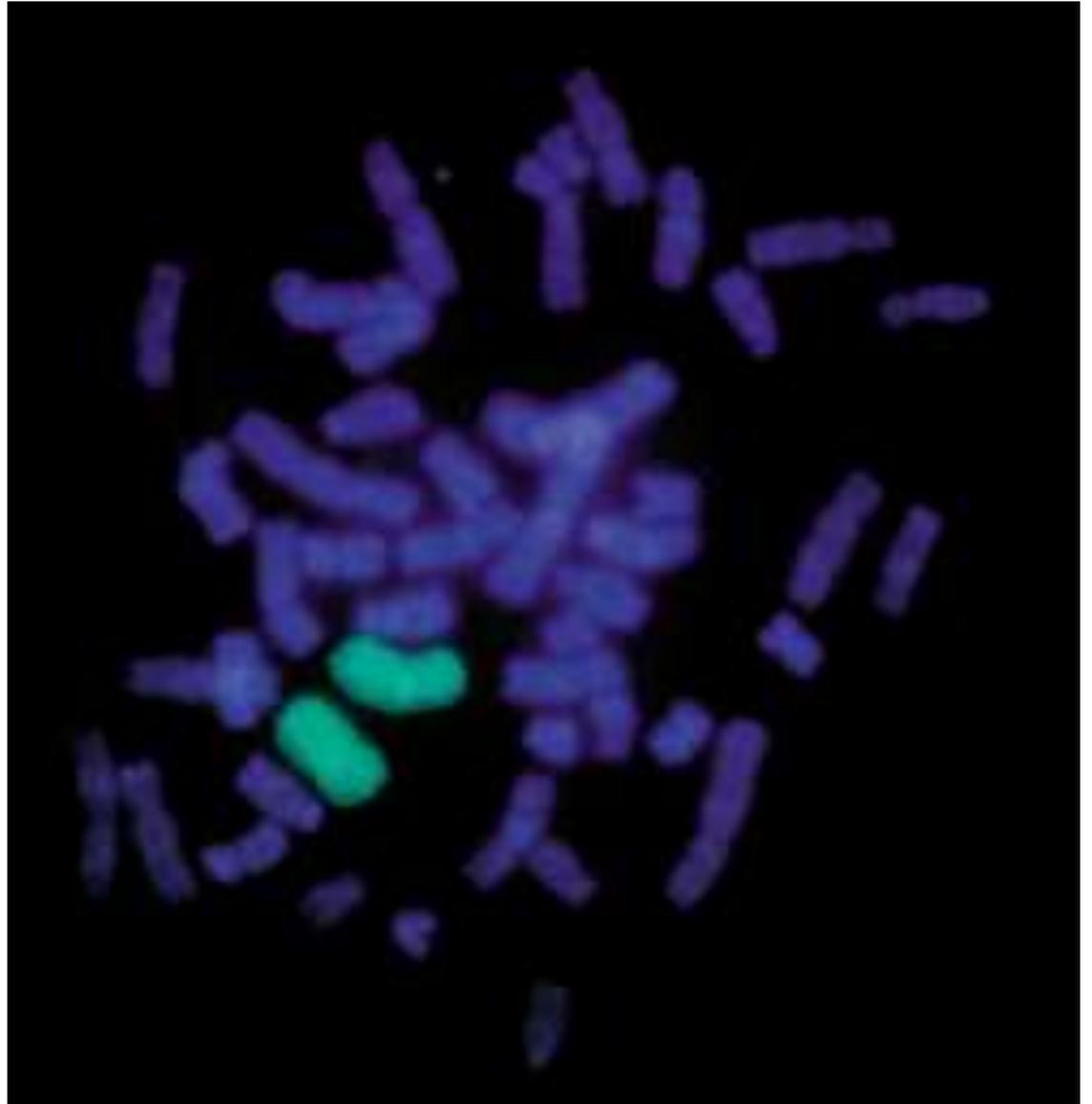


pintado del cromosoma Y  
en rosa, el resto con dapi

## Pintados cromosómicos

Específicas de cromosomas

Pintado del  
cromosoma X

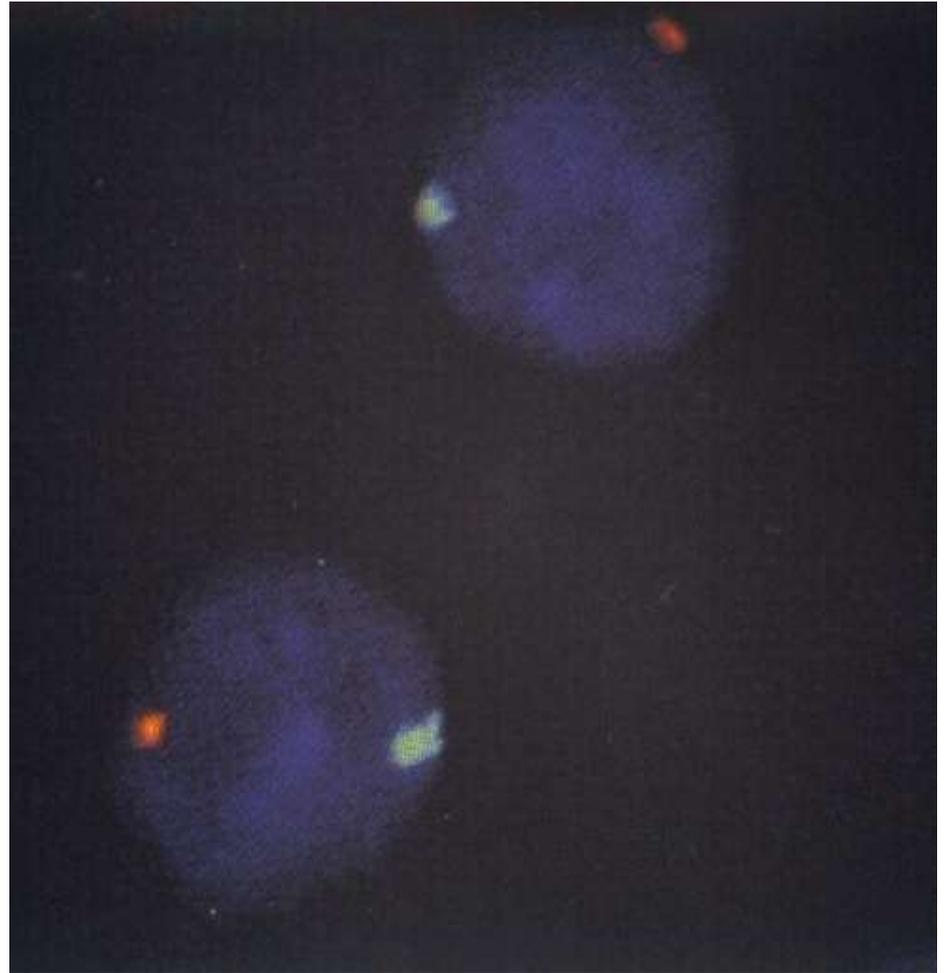


## Pintados cromosómicos

Específicas de cromosomas

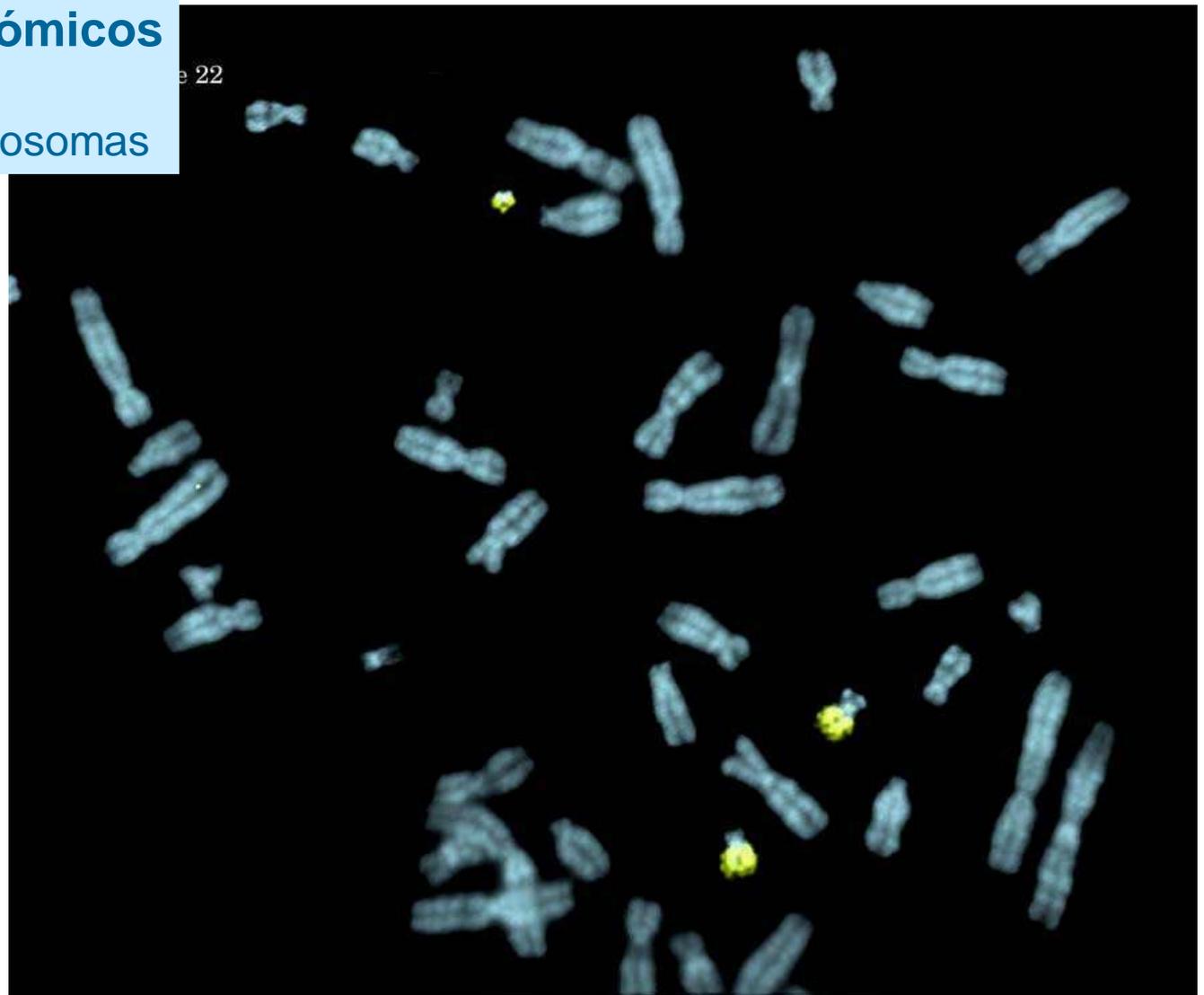
cromosoma X rosa

cromosoma Y verde



# Pintados cromosómicos

Específicas de cromosomas



Pintado del  
cromosoma 22

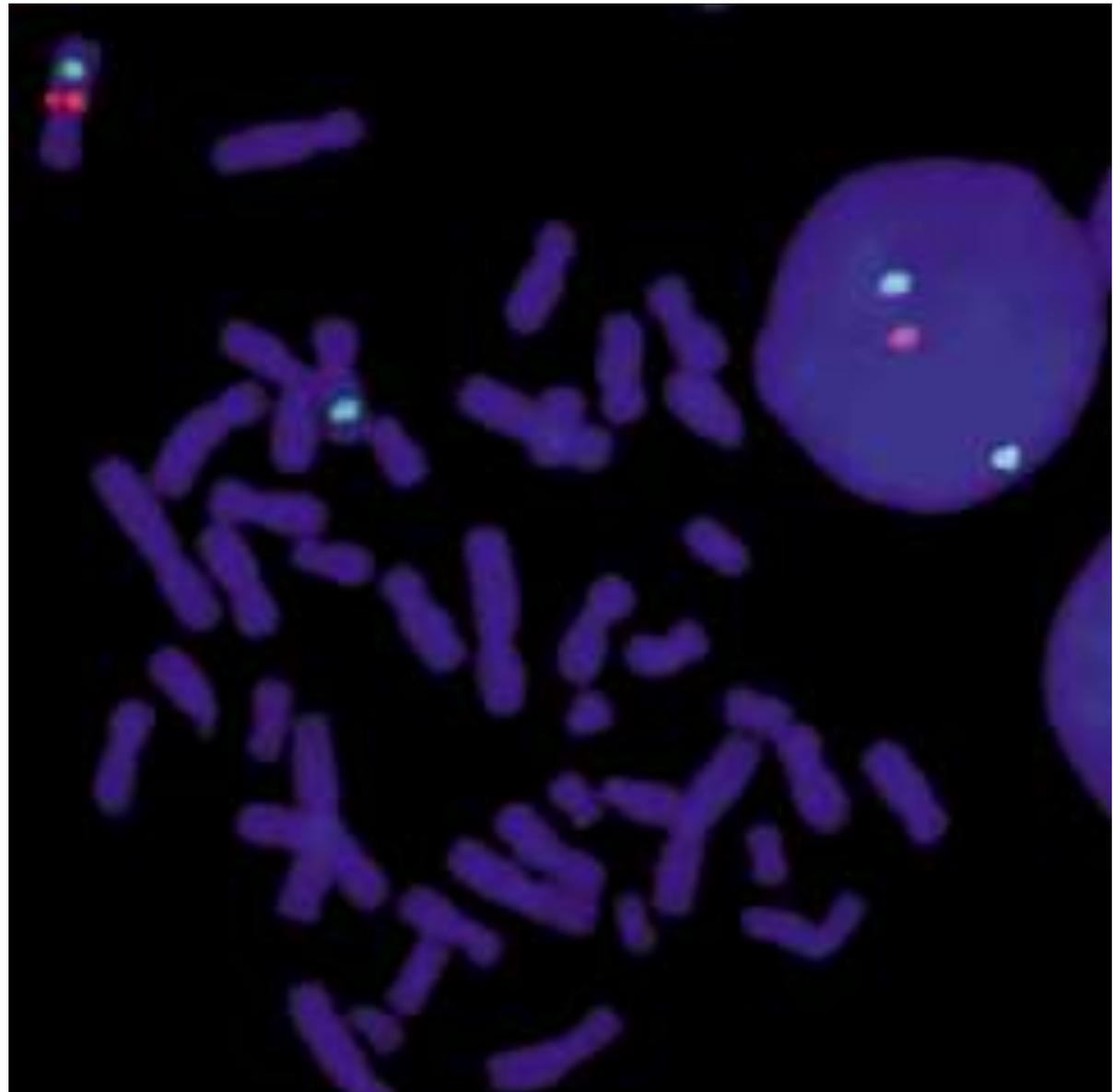
## Sondas específicas de secuencia

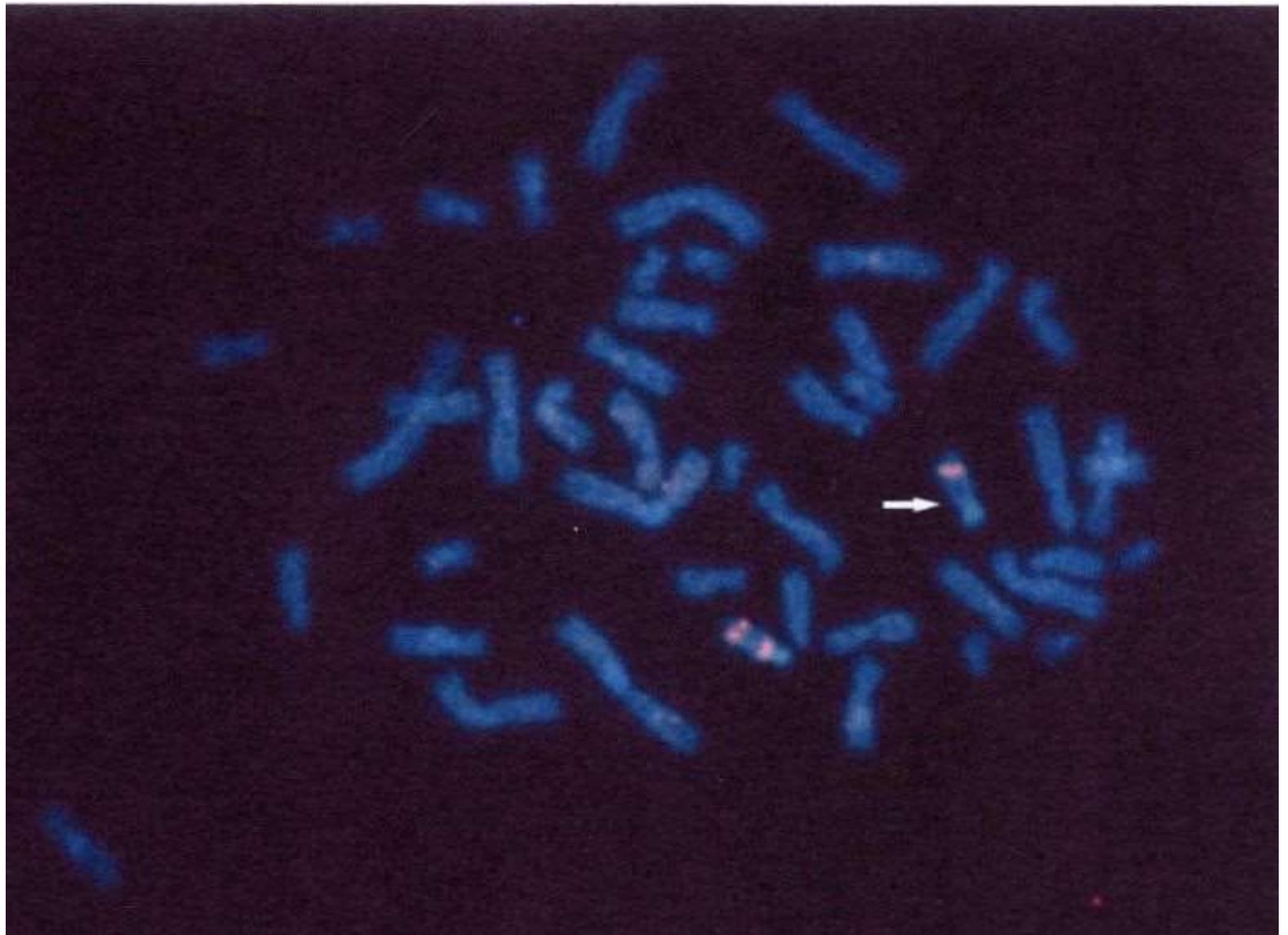
Dirigidas a una región concreta

útiles para detectar síndromes por microdelección

7q11.23 rojo, centrómero cromosoma 7 verde

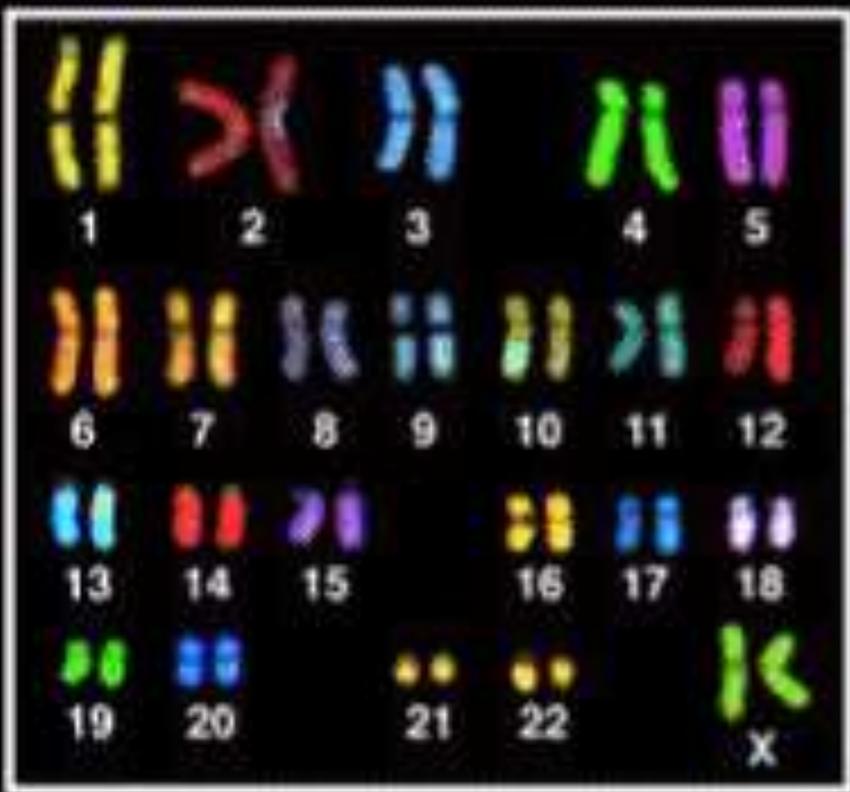
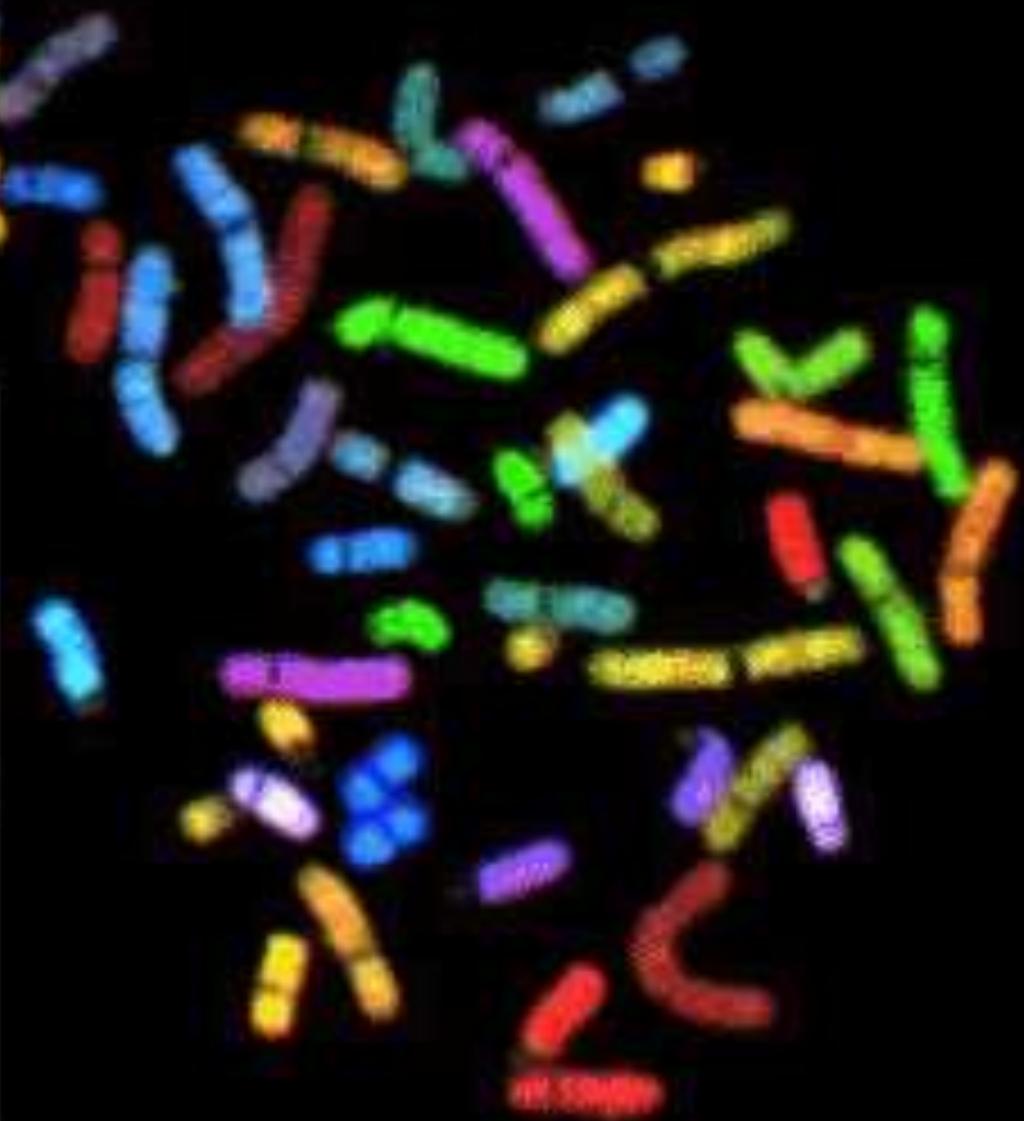
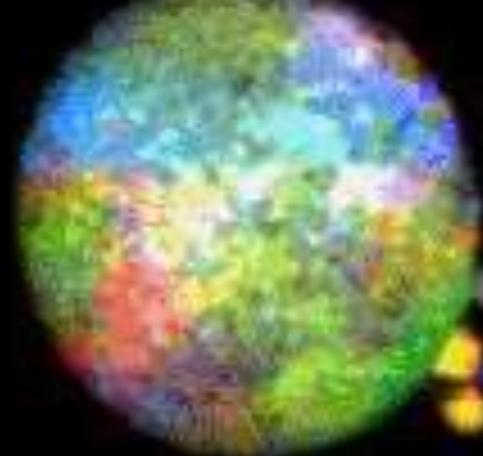
Síndrome de Williams (del 7q11.23)





## **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