

Citogenética: breve descripción de las principales técnicas utilizadas para realizar un estudio cromosómico

Dra. Pilar Corral
Dpto. de Biología Molecular
IACA Laboratorios
citogenetica@iaca.com.ar

Introducción

El laboratorio de citogenética juega un papel fundamental para la genética clínica. Con los avances científicos y tecnológicos desarrollados a partir de los años 70, no sólo hemos podido identificar los cromosomas, sino que hemos podido establecer que las anomalías cromosómicas contribuyen significativamente en la enfermedad genética, resultando en retardo mental, retraso en el crecimiento, malformaciones, abortos espontáneos e infertilidad. Por tal motivo, es importante que el médico conozca cuales son los medios o herramientas que se disponen en la actualidad, su utilidad, indicaciones para estudio y significado de las mismas.

Hoy en día, el análisis cromosómico puede realizarse con técnicas de:

1. Citogenética convencional: Cariotipo de resolución estándar y cariotipo de alta resolución (AR).
2. Citogenética molecular: Hibridación in situ fluorescente (FISH), hibridación in situ fluorescente multicolor (M-FISH o SKY) y la hibridación genómica comparada (CGH).

Estas últimas metodologías representan una auténtica revolución en el área de la genética, dado que han permitido mejorar la sensibilidad y la especificidad de los hallazgos citogenéticos.

Técnicas de citogenética convencional

El cariotipo de un individuo puede realizarse por

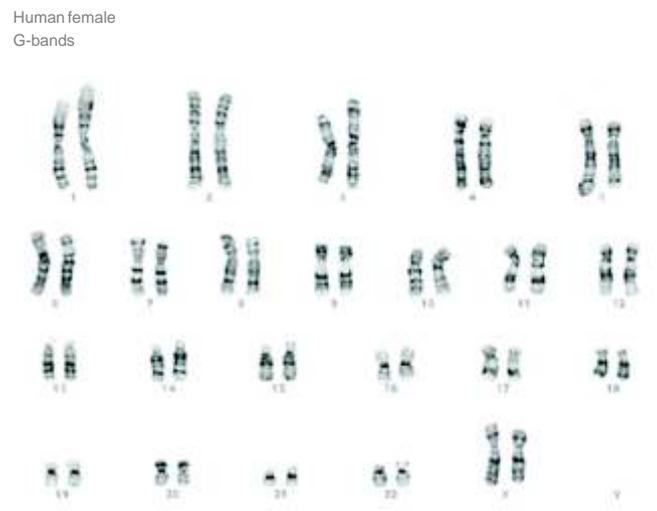
diversas técnicas de bandeo cromosómico y en diferentes tejidos, siendo el bandeo G en linfocitos de sangre periférica la técnica y muestra de elección (Figura 1).

Esta metodología de bajo costo, permite mediante el análisis detallado de todos los cromosomas, detectar la presencia de anomalías numéricas y estructurales.

Las anomalías numéricas (aneuploidías) implican la pérdida y/o ganancia de uno o varios cromosomas completos y puede incluir tanto a autosomas como a cromosomas sexuales.

Las anomalías estructurales implican cambios en la estructura de uno o varios cromosomas, las más comunes son: deleciones, inversiones, translocaciones.

Figura 1. Cariotipo femenino con bandeo G de resolución estándar



¿Cuándo es necesario realizar un cariotipo?

Las indicaciones para realizar un cariotipo quedan reflejadas en la tabla siguiente:

cobas[®]
Life needs answers



MODULAR EVO

Soluciones probadas con
nuevas capacidades

- Mejores servicios
- Eficiencia en el flujo de trabajo
- Capacidad de consolidación de áreas de trabajo
- Soluciones flexibles y adaptables a las necesidades



Productos Roche S.A.Q. e I.
Rawson 3150 - (B1610BAL)
Ricardo Rojas, Tigre, Bs. As. Argentina.
www.roche-diagnostics.com.ar

Tabla I. Indicaciones para realizar un cariotipo

1. Período prenatal:

- Edad mayor de 35 años
- Ansiedad materna
- Triple screening alterado
- Oligoamnios - polihidramnios
- Retraso de crecimiento intrauterino (CIR)
- Arteria umbilical única
- Sospecha ecográfica de cromosopatía
- Antecedentes de cromosopatía balanceada en un progenitor

2. Período neonatal:

- Malformaciones mayores aisladas
- Presencia de 3 o más defectos congénitos menores
- Recién nacido con rasgos dismórficos
- Recién nacido con genitales ambiguos
- Parto con producto muerto de causa inexplicable
- Muerte neonatal de causa inexplicable

3. Período de lactancia:

- Niños con dificultades para el aprendizaje
- Niños con rasgos dismórficos
- Niños con retraso psicomotor

4. Períodos preescolar-escolar:

- Trastornos del crecimiento
- Retraso psicomotor
- Rasgos dismórficos

5. Período de adolescencia:

- Ginecomastia
- Falta de desarrollo puberal
- Amenorrea primaria o secundaria
- Retraso mental
- Rasgos dismórficos

6. Período del adulto:

- Padres de niños con anomalías cromosómicas estructurales
- Abortos de repetición

- Infertilidad inexplicable
- Diagnóstico prenatal (líquido amniótico y biopsia de corion)

7. En todas las edades:

- Procesos malignos (cariotipo constitucional y tumoral)
- Control de trasplantes de médula ósea

Puesto que en las mejores condiciones técnicas, la resolución del cariotipo de resolución estándar no supera las 550 bandas, se deberá realizar un cariotipo de alta resolución o técnicas de citogenética molecular en aquellos casos donde la alteración estructural sospechada sea menor a 10 megabases.

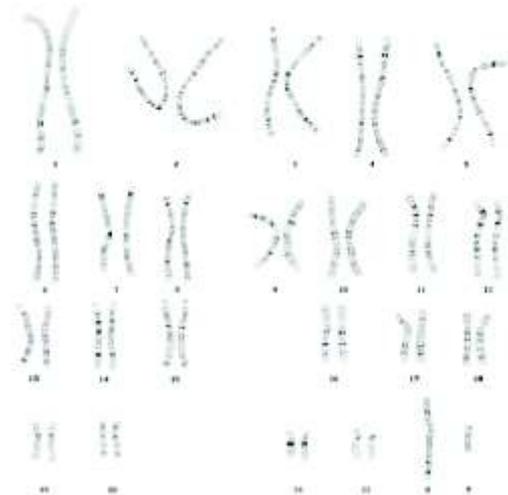
¿En qué consiste un cariotipo de alta resolución y cómo se obtiene?

El cariotipo de alta resolución (AR) consiste en el análisis de los cromosomas en profase y prometafase, incrementando así el número de bandas visibles al microscopio.

En nuestro laboratorio, las células en profase y prometafase se obtienen a partir de un cultivo de linfocitos sincronizado mediante el agregado de los reactivos 5'-fluoro-2'-desoxiuridina (FrdU) y 5'-bromo-2'-desoxiuridina (BrdU).

Los cromosomas en profase y prometafase pueden alcanzar una resolución superior a las 800 bandas (Figura 2).

Figura 2. Cariotipo masculino con bandeado G de alta resolución



De esta manera, al producirse una elongación de los cromosomas es posible la detección de alteraciones estructurales más pequeñas como microdeleciones, duplicaciones y sutiles translocaciones.

Encontramos un ejemplo de su aplicación en los síndromes de deleción y en algunos síndromes de microdeleción (ver Tabla II). También se utiliza para la confirmación de resultados obtenidos en un cariotipo de resolución estándar, y para definir en forma precisa los puntos de ruptura de los cromosomas involucrados en alteraciones estructurales.

Tabla II. Síndromes de deleción / microdeleción

Síndrome	Región cromosómica delecionada
Wolf-Hirschhorn	4p16.3
Cri du Chat	5p15.2
Langer-Giedion	8q24.11-q24.13
Williams*	7q11.23
WARG*	11p13
Prader Willi/Angelman*	15q11.2
Miller-Dieker*	17p13.3
Smith-Magenis*	17p11.2
DiGeorge*	22q11.2
Rubinstein-Taybi*	16p13.3
Kallman*	Xp22.3

Es importante aclarar que:

- Ciertas deleciones muy pequeñas pueden escapar a esta técnica y dar resultado falsos negativos.
- Cualquier deleción que se sospeche citogenéticamente debe ser confirmada por FISH u otra técnica de citogenética molecular.
- Sólo algunas microdeleciones son citogenéticamente visibles. Actualmente, la manera de identificar estos síndromes es por medio de FISH, utilizando sondas específicas para las regiones delecionadas.

Por otro lado, el American College of Medical Genetics (ACMG) recomienda que el AR debe reservarse para casos



**Acompáñanos,
seguimos creciendo**

ADALTIS

Línea completa de reactivos e instrumental para Banco de Sangre: HIV; HIV Ac/Ag p24; HTLV; Hepatitis B; Hepatitis C; Sífilis.

VIRCELL

Reactivos para Diagnóstico de Microbiología: ELISA (Mycoplasma; Chlamydia; Hidatidosis; Brucelosis); IFI (Virus respiratorios; Chlamydia); IF con anticuerpos monoclonales (Virus respiratorios; Chlamydia; Herpes simplex; CMV; Enterovirus; Toxoplasmosis); Rosa de Bengala; Biología Molecular (controles DNA y RNA).



Para más información
llame al tel/fax:
(011) 4771-3783/4771-7676
o visiten nuestro sitio
www.bioars.com.ar



donde un síndrome de microdelección/microduplicación específico es considerado, en el cual su diagnóstico generalmente requiere de cromosomas con una resolución superior a 650 bandas. Además, debido a la gran dificultad y cantidad de trabajo que requiere el análisis de cromosomas de alta resolución, en la rutina el AR de 850 bandas sólo debe ser indicado para mapear regiones cromosómicas específicas.

Es importante recordar que la realización de cualquier prueba genética debe ir acompañada de un acto de asesoramiento genético.

¿Cómo solicitar estos estudios?

Código	Estudio solicitado	Tipo de muestra y requerimiento
1961	BANDEO G (CARIOTIPO RESOLUCIÓN ESTÁNDAR)	5.0 ml de sangre periférica con heparina sódica. Trabajar en condiciones

de máxima esterilidad.

1401 CARIOTIPO DE ALTA RESOLUCIÓN

Remitir muestra a temperatura ambiente, dentro de las 24 horas de realizada la extracción.

Enviar planilla de datos del paciente.

Bibliografía

- Shaffer L, et al. American College of Medical Genetics guideline on the cytogenetic evaluation of the individual with developmental delay or mental retardation. November/December 2005;7(9):650-654.
 - Luthardt FW, Keitges E. Chromosomal Syndromes and Genetic Disease. Encyclopedia of life sciences 2001: 1-11.
 - Barch MJ, Knutsen T, Spurbeck JL. The AGT Cytogenetics Laboratory Manual . Third Edition. Lippincott-Raven. Phyladelphia. New York
 - Galan E. Indicaciones del estudio genético. Protocolos Diagnósticos y terapéuticos de la Asociación Española de Pediatría.
 - Mueller RF, Ian DY (2001) Genética Medica .10ª edición. Marban
- LINKS DE INTERÉS
<http://www.med.com/Medicine Online>
<http://www.geneclinics.org/index.html> Geneclinic

PIPETAS, QUIMICA CLINICA, TESTS RAPIDOS

REACTIVOS LIQUIDOS ESTABLES PARA QUIMICA CLINICA



Durante más de 35 años, HUMAN ha servido al sector de asistencia sanitaria. HUMAN desarrolla y fabrica en Alemania productos de diagnóstico de laboratorio para el mercado mundial. El nombre HUMAN significa calidad y asistencia técnica en más de 160 países.



ORIGEN ALEMANIA
LA MEJOR RELACION COSTO/BENEFICIO


BG Analizadores

BG ANALIZADORES S.A.
 Aráoz 86 | C1414DPB | C. A. B. A. | Argentina
 Tel: 54-11 4856-2024/5734/2876
 Fax: 54-11 4856-5652
www.bganalizadores.com.ar
bga@bganalizadores.com.ar

