

Conferencia
TÉCNICAS CITOGENÉTICAS
Parte 2 de 5

Dra. María Teresa Lemus Valdés
Especialista de 2do Grado Genética Clínica.
Profesora e Investigadora Auxiliar

Los cromosomas pueden estudiarse en diferentes etapas del ciclo de vida celular:

- **En interfase**: Período que media entre el final de una división celular y el comienzo de la siguiente.

- **Durante las divisiones celulares**:
mitosis o meiosis

Existen diferentes métodos de estudio de los cromosomas en INTERFASE CELULAR:

- **Cromatina sexual o Cuerpo de Barr**
- **Cromatina Y o Cuerpo Y Fluorescente**
- **Citogenética Molecular**

CROMATINA SEXUAL O CUERPO DE BARR

Barr y Bertram en 1948 descubren en células interfásicas de mamíferos hembras (gatas) un corpúsculo de cromatina en el núcleo en interfase. Estos se teñían intensamente y se ubicaba en la proximidad de la membrana celular.

Actualmente se conoce que en las células de los individuos femeninos , un cromosoma X de replicación tardía se inactiva en etapa temprana embrionaria y se observa como una masa de cromatina sexual en la interfase celular:

HIPÓTESIS DE MARY LYON

CORPÚSCULO O CUERPO BARR:

Uno de los cromosomas X, el que completa su replicación más tarde que su homólogo, queda condensado e inactivo durante la interfase de células somáticas.

$$\text{No. Cuerpos Barr} = \text{No. Cromos. X} - 1$$

Se analizan entre 100 y 200 células y el conteo de las células cromatin positivas se expresa en %, en caso de mujeres normales se observa una cromatina sexual en el 40 al 60% de los núcleos analizados.

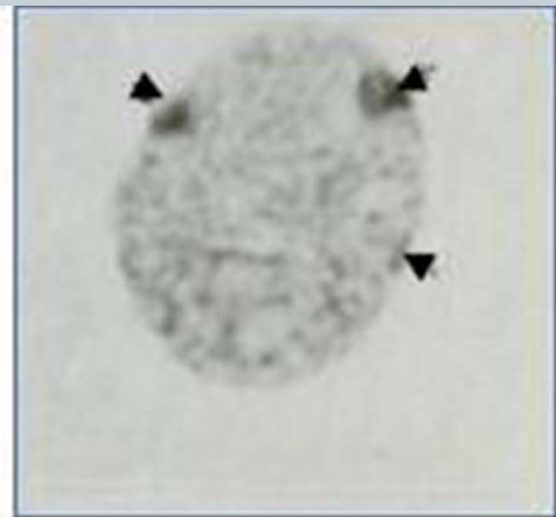
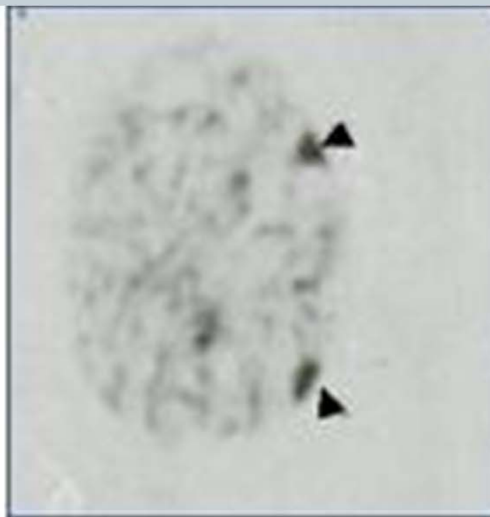
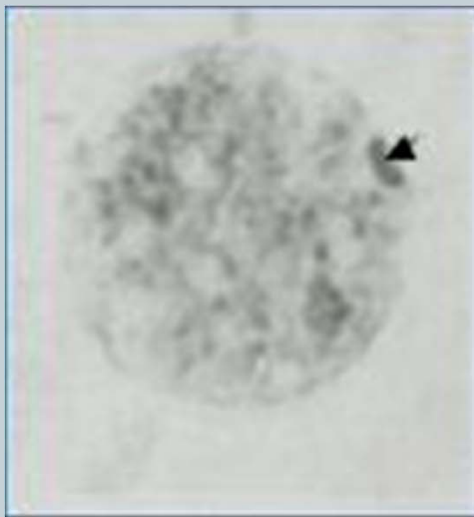
Cromatina Sexual:

Para la toma de la muestra:

- 1. Limpieza y raspado de la mucosa oral**
- 2. Extensión en láminas portaobjetos.**
- 3. Coloración con colorantes nucleofílicos (aceto-orceína o fuscina)**
- 4. Extensión en lámina cubreobjeto**
- 5. Observación en microscopio óptico con campo brillante.**

TÉCNICA DE CUERPO DE BARR O TÉCNICA DE ACETO-ORCEÍNA

# cuerpo Barr	Hembra	Varón
0	45,X	46,XY
1	46,XX	47,XXY
2	47,XXX	48,XXXY
3	48,XXXX	49,XXXXY



Ventajas de la técnica de Cromatina Sexual:

- 1- Rápida y sencilla.**
- 2- Puede realizarse en núcleos interfásicos.**
- 3- No requiere de cultivo de células.**
- 4- Ofrece el estado de los cromosomas sexuales de forma inmediata.**

Estudio de la Cromatina Y o Cuerpo Y Fluorescente:

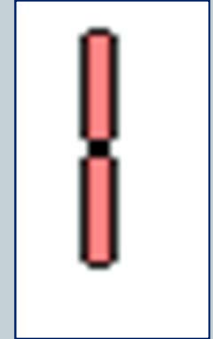
- 1. Obtención de la muestra (igual a la cromatina sexual)**
- 2. Coloración con quinacrina o sus derivados.**
- 3. Observación y análisis al microscopio fluorescente con luz ultravioleta.**

Se visualiza un punto fluorescente dentro de la célula debido a la tinción de la heterocromatina del cromosoma Y

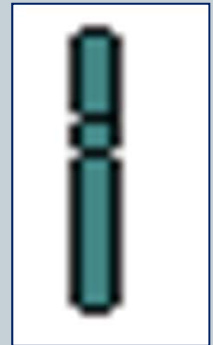
No. Cuerpos Y observados = No. cromosomas Y del individuo

CLASIFICACIÓN DE LOS CROMOSOMAS HUMANOS

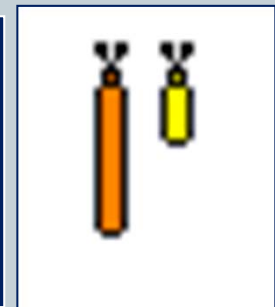
METACÉNTRICOS: Centrómeros en posición mediana del cromosoma y brazos de igual longitud.



SUBMETACÉNTRICOS: Centrómeros ubicados algo desplazado hacia un extremo y da lugar a la formación de brazo corto y brazo largo.



ACROCÉNTRICOS: Centrómeros casi terminales o en posición distal y se definen en el brazo corto tallos y satélites



Obtención de cromosomas:

Cultivo de tejidos: sangre periférica, médula ósea, piel, líquido amniótico, vellosidades coriales.

Cultivo de sangre periférica:

- **Medio de cultivo**
- **Fitoematoglutinina**
- **Colchicina o colcemid**
- **Solución Hipotónica**
- **Fijación**

Metodología empleada para la obtención y análisis de los cromosomas humanos:

1. Extracción de sangre 2-10 ml en jeringuillas conteniendo anticoagulante (heparina sódica)
2. Colocación de la muestra (sangre total o plasma con leucocitos) en frasco de cultivo estéril con medio de cultivo al cual se le adiciona fitohemaglutinina(FHA)
3. Colocar en incubadora a 37°C durante 72 horas.
4. Se le añade colchicina o sus derivados y se deja en reposo durante unos minutos.

Metodología empleada (continuación)

5. Añadir solución hipotónica (KCl 0.56%) que provoca la hinchazón de la célula y ruptura de sus membrana dispersándose los cromosomas.
6. Posteriormente se añades solución fijador de Carnoy (3metanol:1 ácido acético)
7. Extensión por goteo en láminas portaobjetos y secar al aire.
8. Coloración para obtener las bandas.
9. Observación y análisis al microscopio óptico para confirmar cariotipo.