

Bases cromosómicas de las alteraciones genéticas humanas

Comisión de Genética Molecular*

Preparado por: C. Alonso Cerezo¹

ÍNDICE

1. Introducción
2. Ciclo celular
3. Alteraciones cromosómicas
 - 3.1 Anomalías numéricas de los cromosomas
 - 3.2 Anomalías estructurales de los cromosomas
4. Técnicas de estudio de los cromosomas: citogenética
 - 4.1 Citogenética convencional (cariotipo de bandas G)
 - 4.2 Citogenética molecular (hibridación *in situ* con fluorescencia)
 - 4.3 CGH (hibridación genómica comparada)
 - 4.4 Cariotipo multicolor (SKY-FISH)
5. Origen y consecuencias de las alteraciones cromosómicas
 - 5.1 No disyunción en la mitosis
 - 5.2 No disyunción en la meiosis
 - 5.3 Reordenamientos estructurales

1. INTRODUCCIÓN

Los cromosomas son estructuras filiformes formadas por cromatina presentes en el núcleo de las células. Cuando la célula se divide, la cromatina nuclear se condensa y toma la apariencia de orgánulos en forma de bastoncillo que se denominan cromosomas (Chroma, color y soma, cuerpo) porque se tiñen con algunos colorantes biológicos. La cromatina está formada por ácido desoxirribonucleico (ADN) y complejos de proteínas. Los genes se encuentran a lo largo de los cromosomas en un *locus* o posición concreta.

La citogenética humana estudia las características de los cromosomas, su estructura y su herencia. El conjunto de los cromosomas constituye el cariotipo. En 1956, en Zaragoza, Tjio y Levan establecieron el número de cromosomas de las células somáticas humanas: cuarenta y seis cromosomas, que se dividen en cuarenta y cuatro autosomas, iguales en hombres y mujeres, y dos cromosomas sexuales, XY en hombres y XX en mujeres. Los cromosomas homólogos o miembros de un par contienen los mismos *loci* genéticos en la misma secuencia. En condiciones normales, se hereda un miembro de cada par cromosómico del padre, y el otro de la madre.

El cromosoma tiene una morfología lineal con dos **cromátides** que se unen por el **centrómero** y le divide en un brazo corto o brazo "p" (*petite*) y un brazo largo o brazo "q". Los extremos de cada cromosoma se denominan **telómeros**. Algunos cromosomas presentan satélites en el brazo corto (figura 1a). Los cromosomas

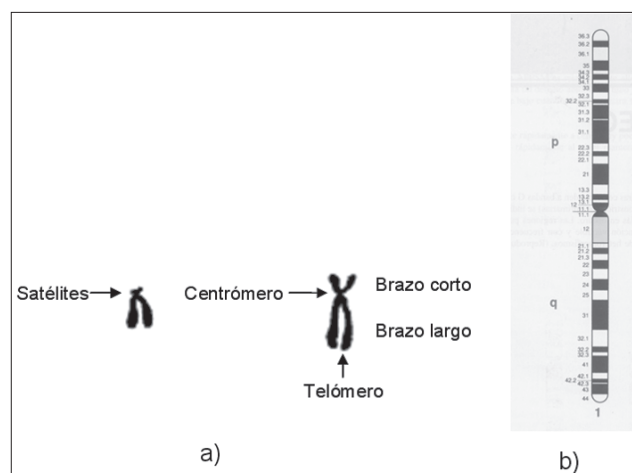
poseen un patrón de bandas características que se ubican en regiones y se enumeran desde el centrómero hacia el telómero del brazo correspondiente. Una banda se define por el número de cromosoma, el símbolo del brazo, el número de la región y el número de la banda dentro de la región (figura 1b). Se ha estandarizado la descripción del cariotipo normal y patológico a través del Sistema Internacional de Nomenclatura para la Citogenética Humana (ISCN) (1). Esta clasificación se basa en el tamaño de los cromosomas y en la posición del centrómero. Si el centrómero se localiza a mitad del cromosoma y los dos brazos presentan aproximadamente igual longitud se denominan **metacéntricos**. Cuando la longitud de un brazo del cromosoma es algo menor que la del otro se denominan **submetacéntricos**. Cuando un brazo es muy corto (p) y el otro largo (q) se denominan **acrocéntricos**. En la especie humana no existen los cromosomas **telocéntricos**, con el centrómero en un extremo. Así pues los cromosomas se clasifican en siete grupos (tabla I).

2. CICLO CELULAR

El **ciclo celular** (2,3) es el proceso ordenado y repetitivo en el tiempo en el que la célula crece y se divide en dos células hijas. La célula puede encontrarse en dos estados claramente diferenciados: la **interfase** y el estado de división celular (figura 2).

La interfase es el estado de no división en el que la célula realiza sus funciones específicas. Si va a avanzar a la división celular, comienza por realizar la duplicación de su ADN. En un típico cultivo celular en crecimiento esta fase es la más larga del ciclo celular ocupando un total de 16 a 24 horas, mientras que la división celular sólo dura 1 a 2 horas. La interfase comprende tres etapas o fases: G1, S y G2.

Figura 1. a) Morfología de los cromosomas. b) Patrón y definición de las bandas del cromosoma 1



* Composición de la Comisión: V. Díaz Golpe (Presidente), C. Alonso Cerezo, M. Baiget, C. Cañadas Castañeda, A. Carrillo, O. Díez Gibert, B. Ezquieta, M. Lucas, J. Molano, A. Sánchez de Abajo, J. Oriola, A. Romero Alfonso

¹Unidad de Genética

Servicio de Análisis Clínicos

Hospital Universitario de La Princesa. Madrid

Tabla I. Clasificación de los cromosomas en grupos según el Sistema Internacional de Nomenclatura para Citogenética Humana (ISCN) (2)

Grupos	Cromosomas	Posición del centrómero
A	1 y 2	Metacéntricos
	2	Submetacéntrico
B	4 y 5	Submetacéntricos
C	6 al 12, X	Submetacéntricos
D	13 al 15	Acrocéntricos
E	16	Metacéntrico
	17 y 18	Submetacéntrico
F	19 y 20	Metacéntrico
G	21 y 22	Acrocéntricos
	Y	Submetacéntrico

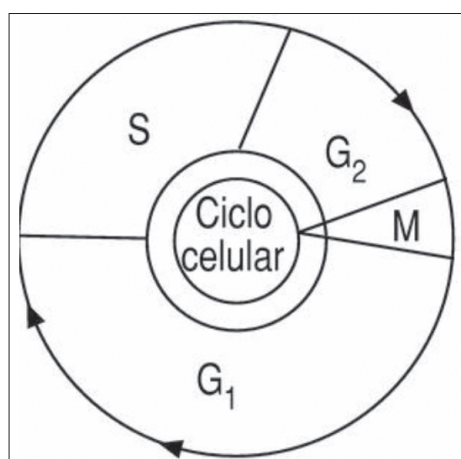


Figura 2. Ciclo celular. Fases. S, síntesis de ADN, M, mitosis.

La **división celular** es la parte del ciclo celular en la que una célula madre o inicial se divide en dos para formar dos células hijas. Existen dos tipos de división celular: la mitosis y la meiosis. Durante la división mitótica en las células somáticas se generan dos células hijas con la misma dotación cromosómica y genética que la célula madre. Durante la división meiótica en las células germinales se produce la formación de células reproductivas (gametos) con 23 cromosomas: 22 autosomas y un cromosoma sexual (X o Y). Las células somáticas son diploides, tienen 46 cromosomas, mientras que los gametos son haploides, tienen 23 cromosomas. Las alteraciones numéricas o estructurales de los cromosomas debido a errores en la división celular pueden ocurrir en las células somáticas o en los gametos pudiendo producir alteraciones importantes desde el punto de vista clínico como malformaciones congénitas, retraso mental, infertilidad, abortos o cáncer.

En la **división mitótica o mitosis** se produce el reparto idéntico del material genético en cada célula hija, duplicado en la fase S de la interfase. Se distinguen cinco etapas: profase, prometafase, metafase, anafase y telofase. El proceso de división se completa mediante la **citocinesis** o división del citoplasma que se produce después de la **caricinesis**, división del núcleo, obteniendo dos células hijas genéticamente iguales.

La **división meiótica o meiosis** es un proceso en el que una célula diploide (2n), experimenta dos divisiones celulares sucesivas (meiosis I y meiosis II) y genera gametos haploides (n). Ambas

comprenden varias fases: profase, metafase, anafase y telofase. Durante la meiosis I el número de cromosomas disminuye de diploide a haploide por la unión de los homólogos en la profase y su segregación en anafase. En la meiosis II las cromátidas se separan y se distribuyen en los núcleos de cada célula hija.

Durante la **meiosis I**, en la línea germinal de los óvulos humanos se produce un estado de latencia hacia el séptimo mes del desarrollo embrionario, y su proceso de meiosis continuará cuando se alcance la madurez sexual. A esta pausa se le denomina **dictiotena**. Cada célula hija tiene la mitad del número de cromosomas con dos cromátidas hermanas cada una. Durante la citocinesis en la espermiogénesis el citoplasma se divide en partes más o menos iguales mientras en la ovogénesis casi todo el citoplasma va a una célula hija resultando un oocito secundario que después formará el óvulo, y otra célula hija se transforma en el corpúsculo polar.

Durante la **meiosis II** se distinguen cinco etapas similares a una mitosis estándar: interfase II, profase II, metafase II, anafase II y telofase II. Al final de la meiosis se forman nuevas membranas nucleares y se produce la citocinesis. En las células hijas de los gametos de los varones, el citoplasma se reparte de forma equitativa, mientras que en gametos de las mujeres el citoplasma se divide de forma desigual formando otro oocito y otro corpúsculo polar. A veces, el corpúsculo polar que se ha formado durante la meiosis I, también se divide y se obtienen tres corpúsculos polares al final de la meiosis.

3. ALTERACIONES CROMOSÓMICAS

Se estima que la frecuencia de las alteraciones cromosómicas en la población es 9,2 por cada 1000 nacimientos (4), en los abortos espontáneos de un 50% y en los nacidos muertos de un 5% (5). Las alteraciones cromosómicas pueden ser numéricas o estructurales.

3.1 Anomalías numéricas de los cromosomas

Entre las anomalías numéricas cromosómicas se encuentra la poliploidía y la aneuploidía.

La **poliploidía** consiste en la presencia de un grupo completo de cromosomas múltiplo de 23 adicionales en la célula. La **triploidía** (69 cromosomas) y la **tetraploidía** (92 cromosomas) producen abortos espontáneos y todas son incompatibles con una supervivencia a largo plazo.

La **aneuploidía** se define como aquellas células que contienen un número de cromosomas no múltiplo de 23 y presentan ganancia o pérdida de cromosomas. Se trata de monosomías o trisomías que afectan a un cromosoma aunque puede implicar a más de uno. Pueden afectar a los autosomas o a los cromosomas sexuales. Las monosomías autosómicas son casi siempre letales. En la trisomía 13 o síndrome de Patau y en la trisomía 18 o síndrome de Edwards se producen abortos de forma espontánea en el 95% de los fetos afectados. La trisomía 21 o síndrome de Down es compatible con la vida. Respecto a las aneuploidías de los cromosomas sexuales son compatibles con la vida excepto la completa ausencia del cromosoma X. Pueden ser monosomía del cromosoma X (síndrome de Turner), XXY (síndrome de Klinefelter) y trisomía X.

3.2. Anomalías estructurales de los cromosomas

Entre las alteraciones estructurales encontramos diversas anomalías: translocaciones, inserciones, inversiones, isocromosomas,

duplicaciones, deleciones y reordenamientos complejos. Algunas abreviaturas citogenéticas utilizadas siguiendo la nomenclatura ISCN (2) se indican en la tabla II.

Tabla II. Abreviaturas citogenéticas según el Sistema Internacional de Nomenclatura para la Citogenética Humana (ISCN) (2)

Abrviación	Significado
del	delección
der	cromosoma derivado
di	cromosoma dicéntrico
dup	duplicación
i	isocromosoma
ins	inserción
inv	inversión
mar	cromosoma marcador
recp	translocación recíproca
rob	translocación robertsoniana
t	translocación
upd	disomía uniparental

Se define como una **translocación** al intercambio de material genético entre cromosomas no homólogos. Tiene una prevalencia de 1/500 individuos. Pueden ser recíprocas o robertsonianas. Se denominan translocaciones **recíprocas** cuando las roturas suceden entre cromosomas diferentes y se produce un intercambio de material. Las translocaciones **robertsonianas** ocurren entre los cromosomas acrocéntricos no homólogos que pierden los brazos cortos (son muy cortos y contienen material genético no esencial) y los brazos largos se unen por los centrómeros. Estos individuos presentan 45 cromosomas. La más frecuente es la translocación robertsoniana de los cromosomas 14 y 21. Los portadores de translocaciones robertsonianas suelen tener fenotipos normales pero sus descendientes pueden presentar un fenotipo anormal por presentar una monosomía o trisomía parcial, o un brazo largo de un cromosoma acrocéntrico de más o de menos (6).

La **inserción** es una anomalía cromosómica en la que el material de un cromosoma se inserta en otro cromosoma no homólogo. La **inversión** consiste en dos roturas en un cromosoma y se inserta el fragmento perdido en sentido inverso. Pueden ser pericéntricas, si incluyen el centrómero, o paracéntricas si no incluyen el centromero. Los **isocromosomas** resultan de la división de un cromosoma por el eje perpendicular a su eje de división habitual y consiste en que un brazo está duplicado (y forma dos brazos de igual longitud, con los mismos *loci* en secuencias invertidas) y el otro brazo está delecionado. Las **deleciones** o **duplicaciones** consisten en una pérdida (delección) o ganancia (duplicación) de un segmento cromosómico que genera un desequilibrio cromosómico. Los **reordenamientos complejos** se producen cuando se implican tres o más cromosomas y son raros en personas con fenotipo normal.

4. TÉCNICAS DE ESTUDIO DE LOS CROMOSOMAS: CITOGÉNÉTICA

Se denomina citogenética al área de la genética que se dedica al estudio de los cromosomas, su estructura y su herencia. Tjio y Levan desarrollaron técnicas efectivas para el estudio cromosómico. Desde entonces se han desarrollado diversas técnicas que se utilizan en la clínica habitualmente.

4.1 Citogenética convencional (cariotipo de bandas G)

El análisis citogenético convencional consiste en el estudio de las alteraciones cromosómicas en las metafases de las células obtenidas tras el cultivo *in vitro* y la adición de un mitógeno específico para los linfocitos T, la fitohemaglutinina. En las células obtenidas se pueden estudiar la morfología de los cromosomas pudiendo detectar tanto las alteraciones numéricas como las estructurales presentes en todo el genoma después de teñir con tripsina-giensa (bandas G).

4.2. Citogenética molecular (hibridación *in situ* con fluorescencia)

Las técnicas de hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH) se basan en la hibridación de una sonda de ADN marcada con una sustancia fluorescente sobre su secuencia complementaria del genoma, bien en la metafase cromosómica o en el núcleo de la interfase. Pueden utilizarse para identificar los reordenamientos cromosómicos particulares o bien para diagnosticar la existencia de aneuploidías con rapidez. Solamente detecta aquella alteración para la cual está diseñada la sonda de ADN marcada con fluorescencia.

Existen sondas de ADN de distintos tipos: centroméricas (marcan únicamente las zonas centroméricas), de secuencias específicas de *locus* (marcan regiones cromosómicas de secuencia única) o de pintado cromosómico (marcan todo un cromosoma).

4.3 CGH (hibridación genómica comparada)

Se desarrolló a principio de los años noventa. No es necesario obtener células en crecimiento porque esta técnica emplea ADN tumoral. Se basa en la hibridación competitiva de dos ADNs, (tumoral y control normal) marcados con distintos fluorocromos, sobre cromosomas normales y permite, por tanto, la detección de ganancias y pérdidas de regiones cromosómicas en todo el genoma del tumor por la comparación de las intensidades de las señales de hibridación. En un tumor sin alteraciones cromosómicas, el resultado da lugar a cromosomas amarillos debido a que la cantidad de ADN marcado en rojo (ADN no patológico) y verde (ADN tumoral) es la misma (mezcla 1:1 de rojo y verde). Si el tumor tiene una delección o pérdida, aparece en rojo debido a que hay más cantidad de ADN normal para hibridar en esa región cromosómica. Si el tumor contiene alguna ganancia cromosómica, la cantidad de ADN tumoral para hibridar es mayor, y esa zona se hibridará en una mayor proporción de fluorocromo verde del tumor (7).

4.4 Cariotipo multicolor (SKY-FISH)

El cariotipo multicolor SKY es una técnica de citogenética molecular, y de momento sólo se utiliza en el campo de la investigación. Este método se basa en la utilización de 24 sondas de ADN (una para cada cromosoma humano) marcadas con una combinación de diferentes fluorocromos y en la aplicación de complejos sistemas de análisis de imagen. La técnica de SKY, mediante la tecnología espectral, analiza el espectro de emisión de cada uno de los píxeles de la imagen y asigna un color artificial a cada pixel dependiendo de su espectro para lograr la imagen multicolor (8). Se utiliza para caracterizar correctamente translocaciones complejas, y también para detectar alteraciones cromosómicas crípticas en cariotipos aparentemente normales.

5. ORIGEN Y CONSECUENCIAS DE LAS ALTERACIONES CROMOSÓMICAS

5.1. No disyunción en la mitosis

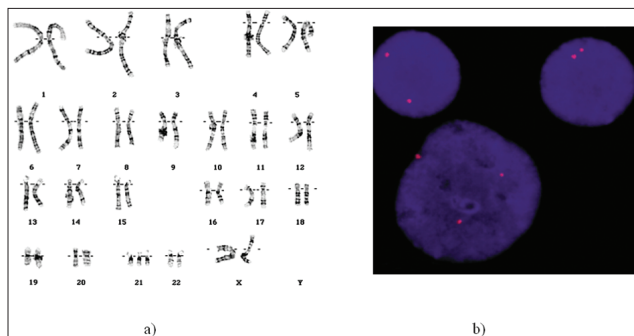
Las líneas celulares se establecen en el individuo durante el desarrollo embriológico y forman parte de su constitución cromosómica. Se denomina **mosaicismo**, la coexistencia en un mismo individuo de dos o más líneas celulares con diferente dotación cromosómica. Se puede producir una situación indistinguible del mosaicismo debido a la unión de dos concepciones diferentes coexistiendo una o más líneas celulares en un individuo. Este suceso se denomina **quimerismo**.

Una causa frecuente de mosaicismo es la **no disyunción** en una división mitótica temprana. La no disyunción se define como el fallo de los cromosomas homólogos para segregarse simétricamente en la división celular.

Si ocurre en un cigoto inicialmente normal (46N), genera mosaicismo con líneas celulares trisómicas y monosómicas, así como líneas celulares normales. Si la no disyunción poscigótica ocurre en un cigoto trisómico para un autósoma, entonces la copia del homólogo de más se pierde y la célula trisómica se convierte en 46N. La mayoría de los mosaicos trisómicos/disómicos 13, 18, 21 y X se producen de esta forma (9). Cuando la conversión de trisomía a monosomía ocurre en fases muy tempranas de la gestación, la pérdida de un cromosoma puede ocasionar un embrión disómico biparental normal o **disomía uniparental** (UPD). A este evento se le denomina corrección o rescate poscigótico. La disomía uniparental supone la presencia de una pareja de cromosomas homólogos, ambos procedentes del mismo progenitor en un individuo o línea celular disómica. Puede ser isodisomía, cuando existen dos copias exactamente iguales del padre o de la madre, o heterodisomía, cuando existen dos copias diferentes de un par cromosómico del padre o de la madre (10,11). El rescate o corrección poscigótica se puede diagnosticar en el estudio prenatal, si el cariotipo de la muestra de vellosidades coriónicas presenta una trisomía y la muestra de líquido amniótico presenta disomía.

Caso clínico: mujer recién nacida que presenta pabellones auriculares pequeños, hueso occipital plano, hendiduras palpebrales con ligera inclinación hacia arriba. Se realiza un cariotipo en sangre periférica presentando en el 50% de las metafases 47 cromosomas con 3 cromosomas 21 de estructura aparentemente normal y fórmula sexual XY; el otro 50% de las metafases presentan 46 cromosomas con fórmula sexual XX. Resultado: 47,XX,+21/46,XX, síndrome de Down en mosaico. Se confirma mediante la técnica de FISH (figura 3).

Figura 3. a) Cariotipo en sangre periférica del síndrome de Down, 47,XX+21. b) Hibridación *in situ* con fluorescencia mediante la utilización de la sonda centromérica del cromosoma 21



5.2. No disyunción en la meiosis

Si se produce un fallo en la separación de los cromosomas homólogos en la meiosis I, una célula hija tendrá dos cromosomas (disómica) y la otra no tendrá ninguno (nulisómica).

Si la meiosis I ocurre de forma normal y la no disyunción ocurre en la meiosis II, las cromátides no se separan. Después de la fertilización, si asumimos que el otro gameto es normal, el cigoto será **trisómico** o **monosómico**. Si los padres tienen una dotación cromosómica normal, la descendencia trisómica o monosómica se denomina trisomía o monosomía primaria.

Caso clínico: varón de 32 años, que presenta infertilidad desde hace 6 años y 2 seminogramas con el resultado de azoospermia. Presenta un fenotipo de 1 metro 95 cm de estatura, delgado, piernas largas y signos de hipogonadismo. Al realizar el estudio del cariotipo en sangre periférica presenta 47 cromosomas de estructura aparentemente normal y fórmula sexual XXY en las 20 metafases estudiadas. Resultado: 47,XXY síndrome de Klinefelter (figura 4).

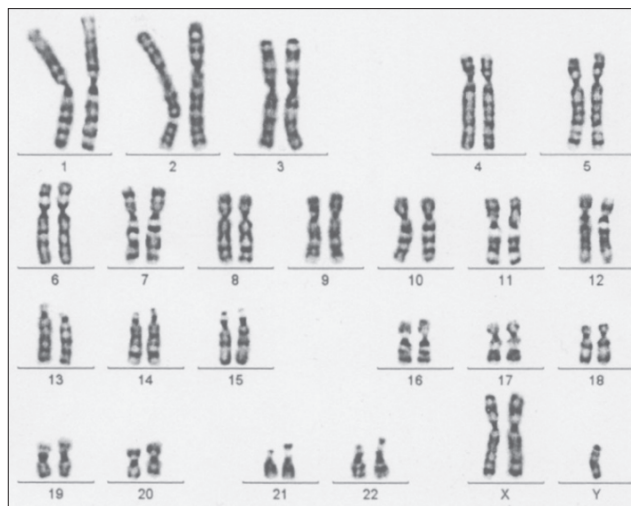


Figura 4. Síndrome de Klinefelter 47,XXY.

5.3 Reordenamientos estructurales

Los reordenamientos estructurales de los cromosomas se pueden producir durante la meiosis cuando los cromosomas homólogos se alinean de manera inapropiada. También se pueden producir roturas cromosómicas durante la meiosis o mitosis. Cuando las roturas se mantienen o se reparan de forma inapropiada se altera la estructura del cromosoma. Las anomalías estructurales pueden ser **equilibradas** (*balanced*), si no existe pérdida ni ganancia de material genético, o **desequilibrada** (*unbalanced*) si existe pérdida o ganancia de éste. Los reordenamientos estructurales surgen de novo en un individuo cuando sus progenitores no son portadores de la alteración, o bien puede ser heredada de alguno de sus progenitores.

Caso clínico: se trata de una pareja que acude a la consulta por tener tres abortos. El varón tiene tres hijas de una pareja anterior. Ambos presentan un fenotipo normal. Se realiza el cariotipo a la

mujer y presenta en todas las metafases estudiadas en sangre periférica una translocación robertsoniana entre los cromosomas 13 y 14, siendo los posibles puntos de ruptura (q10;q10) con fórmula sexual XX. Se realiza el cariotipo a sus progenitores, siendo el padre portador de la misma translocación. Resumen: 46,XX,der (13:14)(q10;q10). Portadora de una translocación recíproca equilibrada heredada del padre (figura 5).

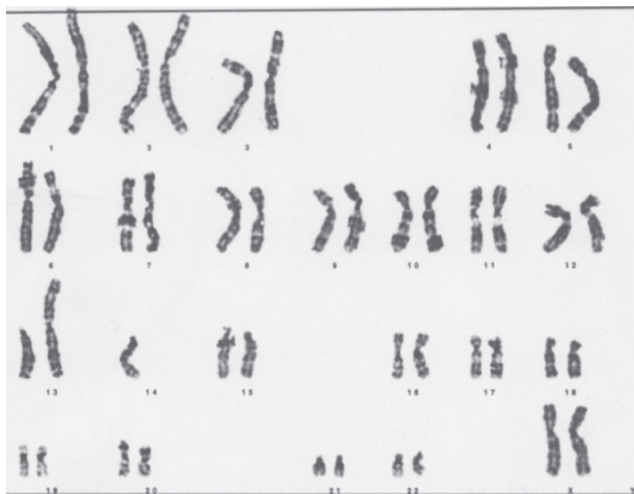


Figura 5. Cariotipo 46,XX,der (13:14)(q10;q10). Traslocación robertsoniana 13 y 14.

BIBLIOGRAFÍA

1. ISCN: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (Cytogenetic & Genome Research). Ed. Shaffer LG, Tommerup N. 2005.
2. Jorde, Carey, Bamshad & White. Medical Genetics Updated 3rd edition; 2006.
3. Nussbaum, McInnes & Willard. Thompson & Thompson Genetics in Medicine, revised 6th edition, 2001.
4. Jacobs PA, Browne C, Gregson N, Joyce C, White H. Estimates of the frequency of chromosome abnormalities detectable in unselected newborns using moderate levels of banding. *J Med Genet* 1992;29:103-8.
5. Harper PS. Practical Genetic Counselling. Ed por Arnolds (Publishers) Ltd. 6th edition, julio 2004.
6. Garned RJ, Sutherland GR. Chromosome abnormalities and genetic counselling. Editado: Oxford University, 3ª edición, 2004.
7. Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* 1992;258:818-21.
8. Schröck E, Du Manoir S, Veldman T, Schoell B, Wienberg J, Ferguson Smith, et al. Multicolor spectral karyotyping of human chromosomes. *Science* 1996;273:494-7.
9. Robinson WP, Binkert F, Bernasconi F, Lorda-Sánchez I, Werder EA, Schinzel AA. Molecular studies of chromosomal mosaicism: relative frequency of chromosome gain or loss a possible role of cell selection. *Am J Hum Genet* 1995;56:444-51.
10. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson Genetics in Medicine. Ed.: WB SAunders Company, 6ª edición, 2004.
11. Lynn BJ, Carey JC, Bamshad RL, White PhD. Medical Genetics. Ed. por Cv Mosby, 3ª ed., 2005

Correspondencia

C. Alonso Cerezo
Unidad de Genética. Servicio de Análisis Clínicos
Hospital Universitario de La Princesa
c/ Diego de León, 62
28006 Madrid
calonso.hlpr@salud.madrid.org